

**KOVALENT VERKNÜPFT
GALLENSÄURE- UND RETINALDIMERE
FÜR MEMBRANUNTERSUCHUNGEN**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Chemie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Weimann
aus Ilse

1983

KOVALENT VERKNÜPFTE GALLENSÄURE- UND RETINAL-
DIMERE FÜR MEMBRANUNTERSUCHUNGEN

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Chemie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Weimann
aus Ilsede

1. Referent: Prof. Dr. J.-H. Fuhrhop

2. Referent: Prof. Dr. W. Broser

Tag der mündlichen Prüfung: 20.7.1983

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 1977 bis März 1978 in der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung in Braunschweig-Stöckheim und von April 1978 bis April 1983 im Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Professor Dr. J.-H. Fuhrhop angefertigt.

Herrn Professor Dr. J.-H. Fuhrhop gilt mein Dank für die vielfältigen Anregungen, seine stete Diskussionsbereitschaft und die zahlreichen wertvollen Hinweise, die eine ausgezeichnete Voraussetzung für die Entwicklung und das Gelingen dieser Arbeit waren.

Den Damen und Herren der Meßabteilungen danke ich für die Aufnahme der Spektren.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Aufgabenstellung	10
2.	Darstellung von zyklischen Dimeren aus Gallensäuren	17
2.1.	Darstellung des zyklischen Dimeren aus Lithocholsäure <u>3</u>	17
2.1.1.	Darstellung von 5β -Cholan- $3\alpha,24$ -diol <u>4</u>	19
2.1.2.	Darstellung von 3α -(2-Chlor-2-oxoacetyloxy)- 5β -cholan-24-oylchlorid <u>5</u>	21
2.1.3.	Darstellung von 3α [(Carboxycarbonyl)oxy]- 5β -cholan-24-säure-24,3-(5β -cholan- $3\alpha,24$ -diyl)-ester <u>6</u>	22
2.1.4.	Darstellung von 3α -Hydroxy- 5β -cholan-24-säure-methylester <u>7</u>	25
2.2.	Zyklische Dimere aus Desoxycholsäure <u>2</u>	26
2.2.1.	Darstellung von 5β -Cholan- $3\alpha,12\alpha,24$ -triol <u>8</u>	26
2.2.2.	Darstellung von 3α -(2-Chlor-2-oxoacetyloxy)- 12α -hydroxy- 5β -cholan-24-oylchlorid <u>9</u>	27
2.2.3.	Darstellung von 3α -[(Carboxycarbonyl)oxy]- 12α -hydroxy- 5β -cholan-24-säure-24,3-(12α -hydroxy- 5β -cholan- $3\alpha,24$ -diyl)-ester <u>10</u>	28
2.2.4.	Darstellung von $3\alpha,12\alpha$ -Dihydroxy- 5β -cholan-24-säure-methylester <u>11</u>	32
2.2.5.	Darstellung von 3α -(3-Carboxy-1-oxopropoxy)- 5β -cholan-24-säure <u>12</u>	32
2.2.6.	Darstellung von $3\alpha,3\alpha'$ -[1,4-Dioxo-butandiylbis-(oxy)]bis [5β -cholan-24-ol] <u>13</u>	33
2.3.	Einbau von Gallensäuren in Membranen	36
2.3.1.	Präparation und Charakterisierung von Vesikeln	37
2.3.1.1.	Präparation und Charakterisierung von Vesikeln aus Lecithin und Desoxycholsäure	38
2.3.1.2.	Präparation und Charakterisierung und Vesikeln aus Lecithin und dem Dimeren <u>10</u>	39

2.3.1.3.	Versuche zur Präparation von Vesikeln aus Desoxycholsäure <u>2</u>	39
2.3.1.4.	Versuche zur Präparation von Vesikeln aus 3a-(3-Carboxy-1-oxopropoxy)-5β-cholan-24-säure <u>12</u>	40
3.	Versuche zur Darstellung von zyklischen Tetrameren aus Desoxycholsäure <u>2</u>	41
3.1.	Modellverbindungen	44
3.1.1.	Darstellung von 3a,12a-Dihydroxy-5β-cholan-24-säure-benzylester <u>19</u>	46
3.1.2.	Darstellung von 3a-(Chloroxoacetyloxy)-12a-hydroxy-5β-cholan-24-säure-benzylester <u>20</u>	46
3.1.3.	Darstellung von 3a-(Ethoxyoxoacetyloxy)-12a-hydroxy-5β-cholan-24-säure-benzylester <u>21</u>	47
3.1.4.	Darstellung von 3a-(Ethoxyoxoacetyloxy)-12a-hydroxy-5β-cholan-24-säure <u>22</u>	47
3.1.5.	Darstellung von 3a,12a-Bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5β-cholan-24-säure <u>23</u>	48
3.1.6.	Darstellung von 3a,12a-Bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5β-cholan-24-ol <u>24</u>	49
3.1.7.	Darstellung von Chloroxoessigsäure-[3a,12a-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5β-cholan-24-yl]-ester <u>25</u>	51
3.1.8.	Darstellung von Oxalsäure-[3a,12a-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5β-cholan-24-yl]-ethyl-ester <u>26</u>	51
3.1.9.	Darstellung von Oxalsäure-(3a,12a-dihydroxy-5β-cholan-24-yl)-ethyl-ester <u>27</u>	52
3.1.10.	Darstellung von Oxalsäure-[3a,12a-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5β-cholan-24-yl]-[12a-hydroxy-24-oxo-24-(phenylmethoxy)-5β-cholan-3a-yl]-ester <u>28</u>	52
4.	Wittigreaktionen	54
4.1.	Darstellung der Wittig-Salze	54
4.1.1.	Darstellung von Ethyltriphenylphosphonium-bromid <u>29</u>	55

4.1.2.	Darstellung von 1,5-Pentandiylbis(triphenylphosphonium)bromid <u>30</u>	55
4.1.3.	Darstellung von 1,6-Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid <u>31</u>	56
4.2.	Oxidation von sekundären Steroidalkoholen mit Dipyridin-Chrom(VI)oxid	57
4.2.1.	Darstellung von Dipyridin-Chrom(VI)oxid <u>32</u>	57
4.2.2.	Darstellung von Cholest-5-en-3-on <u>34</u>	57
4.2.3.	Darstellung von 3-Ethylidencholest-4-en <u>36</u>	60
4.2.4.	Darstellung von 3,3'-(Hexandiyliden)bis- [4-cholesten] <u>37</u>	61
4.2.5.	Darstellung von 3-Oxo-5 β -cholan-24-säure <u>39</u>	64
4.2.6.	Darstellung von 3-Oxo-5 β -cholan-24-säure- methylester <u>40</u>	65
4.2.7.	Darstellung von 3-Ethyliden-5 β -cholan-24- säure-methylester <u>41</u>	66
4.2.8.	Darstellung von 3,3'-(1,6-Hexandiyliden)- bis [5 β -cholan-24-säure] dimethylester <u>42</u>	66
4.2.9.	Wittig-Reaktionen mit Ketonen	66
4.2.10.	Wittig-Reaktionen an Polyenen	68
4.2.10.1.	Darstellung von 1,6-Diretynylidenhexan <u>49</u>	69
4.2.11.	Synthese potentieller Vesikelbildner	70
4.2.11.1.	Darstellung von 1,11,17,27-Octacosatetra- en <u>51</u>	70
5.	Zusammenfassung	72
6.	Experimenteller Teil	74
6.1.	Zyklische Dimere aus Gallensäuren	76
6.2.	Versuche zur Darstellung zyklischer tetra- merer Gallensäuremoleküle	89
6.3.	Wittig-Reaktionen	99
7.	Literaturverzeichnis	114

1. Einleitung und Aufgabenstellung

Bei ersten Untersuchungen von Strecker¹⁾ an einem Hydrolysat von Ochsen-galle wurde 1848 die Cholsäure 1 isoliert, die sich ebenso wie die später isolierten Gallensäuren vom Grundgerüst der Cholansäure ableiten läßt.

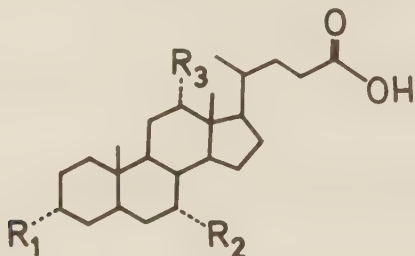


Abb.1: Cholsäure 1 : $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$
 Desoxycholsäure 2 : $R_1 = R_3 = \text{OH}; R_2 = \text{H}$
 Lithocholsäure 3 : $R_1 = \text{OH}; R_2 = R_3 = \text{H}$

Alle natürlich vorkommenden Gallensäuren haben an C-3 eine α -ständige Hydroxylgruppe und das 5-H-Atom hat β -Konfiguration. Die Ringe A und B sind cis-verknüpft, während die Ringe B/C und C/D trans-verknüpft sind. Alle sechsgliedrigen Ringe liegen in der stabilsten Sesselkonformation vor.

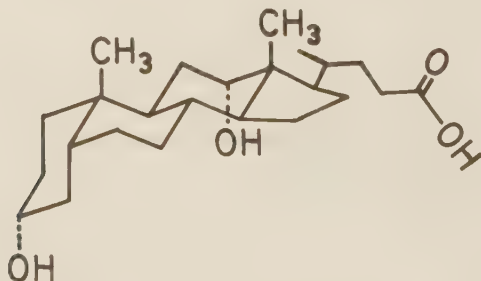


Abb.2: Desoxycholsäure 2

Gallensäuren kommen in der Galle als Gallensalze²⁾ vor, d.h. sie liegen als Natriumsalze der Glykochol- und Taurocholsäure vor, in denen die Gallensäuren über eine Peptidbindung mit Glycin bzw. Taurin ($\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$) verknüpft sind. Solche Gallensalze enthalten einen im wesentlichen kohlenwasserstoffartigen, lipophilen Rest neben einer ionischen, hydrophilen Gruppe und wirken daher als grenzflächenaktive Dispersionsmittel. Die fettresorptionsfördernde Wirkung der Gallensalze beruht zum einen auf der emulgierenden Wirkung und zum anderen auf der Aktivierung des Enzyms Lipase (katalysiert die Verseifung von Glyceriden).

Bei weiteren Untersuchungen stießen Wieland und Sorge³⁾ auf die sogenannte „Choleinsäure“, eine Molekülverbindung aus einem Molekül Fettsäure und acht Molekülen Desoxycholsäure 2 (3a, 12a-Dihydroxy-5 β -cholansäure).

Unter dem Begriff „Choleinsäuren“ faßt man heute alle Molekülverbindungen der Desoxycholsäure 2 mit Säuren, Estern, Alkoholen, Ethern, Phenolen und Kohlenwasserstoffen⁴⁻²¹⁾ zusammen. Sie zeichnen sich durch große Stabilität und eine gute Wasserlöslichkeit ihrer Natriumsalze aus. Bildung und Stöchiometrie dieser Einschlußverbindungen hängt nur von geometrischen Faktoren ab. Ihre Bedeutung liegt darin, daß durch ihre Bildung vorher wasserunlösliche Moleküle als Einschlußverbindungen wasserlöslich werden.

Als Einschlußverbindungen werden kristalline Molekülverbindungen bezeichnet, für deren Struktur folgende Merkmale charakteristisch sind: Von beiden Partnern der Additionsverbindung ist jeweils nur einer Strukturträger im kristallographischen Sinn. Die gebildeten Kristallgitter enthalten Hohlräume von molekularen Dimensionen, d.h. mit lichten Weiten von etwa 5 bis 8 Å. In den Hohlräumen sind die Moleküle der anderen Komponente eingelagert. Die Hohlräume sind entweder allseitig vom Gitter wie von einem Käfig umschlossen oder haben, nach einer Dimension offen, die Gestalt von Kanälen oder, nach zwei Dimensionen offen, die Gestalt von Schichten. Deshalb spricht man von „Käfig“- „Kanal“- und Schichteinschlußverbindungen.



Bei den Choleinsäuren handelt es sich um Gittereinschlußverbindungen vom Kanaltyp. Dies wurde durch Röntgenstrukturanalysen von Kratky und Giacomello²²⁻²⁸⁾ bewiesen. Desoxycholsäure kristallisiert mit zwei Molekülen in der Einheitszelle. Jedes Molekül ist stark gebogen, was durch die cis-Verknüpfung der Ringe A und B hervorgerufen wird. Zwei Moleküle Desoxycholsäure legen sich in der sogenannten „Kopf-Schwanz“-Anordnung (siehe Abb.3) und lassen ein zylindrisches Loch von etwa 7,22 Angström Länge frei.

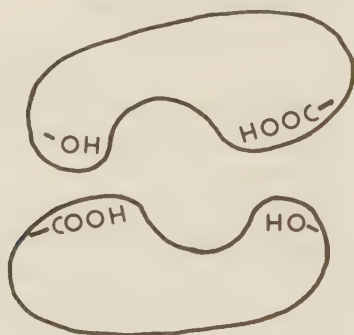


Abb.3: Idealisiertes Bild der Desoxycholsäureeinheitszelle.

Die Fettsäuremoleküle füllen diesen Kanal aus. Je größer die Fettsäure, desto größer ist die Anzahl der dimeren Desoxycholsäuren, die zur Aufnahme der Gastmoleküle benötigt werden.

Die am besten untersuchten Einschlußverbindungen sind jene aus Desoxycholsäure und Fettsäuren. Sie entstehen stets in definierten stöchiometrischen Verhältnissen, d.h. das Gastmolekül wird von 2,4,6 oder 8 Desoxycholsäuremolekülen eingeschlossen. Durch Titration der aus den Einschlußverbindungen befreiten Säure konnten die stöchiometrischen Verhältnisse bestimmt werden^{3,9,29-30)}.

Steroiddimere, dargestellt von McKenna³¹⁾ aus Conessin- und Cholsäurederivaten zeigen die Fähigkeit, Perylen in Wasser ohne Micellenbildung zu lösen bzw. die Absorptionsbanden des wasserlöslichen Pinacyanoljodids in

einen längerwelligen Bereich zu verschieben. Diese großen Moleküle, die aus zwei oder mehreren natürlich vorkommenden polyzyklischen Einheiten (wie Alkaloide oder Steroide) bestehen, hydrophile Gruppen enthalten und zu hydrophoben Wechselwirkungen mit kleineren „Substraten“ fähig sind, können als ein mögliches Modell für Enzym-Substrat-Komplexe betrachtet werden. Die großen V-förmigen Moleküle können starke hydrophobe Wechselwirkungen mit wasserunlöslichen (Perylen) oder wasserlöslichen (Pinacyanoljodid) „Substraten“ ausüben und deren chemisches Verhalten beeinflussen. Die Annahme, daß die Substrate wie in den sogenannten „enzyme clefts“ (Enzymspalten) von den V-förmigen Dimeren umschlossen sind, bildet die Grundlage für ihre mögliche Verwendung als Enzymmodell.

Schubert und Mitarbeiter^{32,33)} gelangen zu Steroiddimeren aus Cholesterin durch Umwandlung mit *Mycobacterium smegmatis*. Dabei wird zunächst das Cholesterin zum Cholest-4-en-3-on oxidiert und an C-26 eine OH-Gruppe eingeführt. An das so erhaltene 26-Hydroxycholest-4-en-3-on wird dann über Bernsteinsäure Cholesterin gebunden.

Zyklische dimere oder tetramere Desoxycholsäuremoleküle enthalten axiale Hydroxylgruppen an C-12, die in das Molekülinnere zeigen, in unpolaren Lösungsmitteln große Polarität zeigen und dort zu spezifischen Einschlußverbindungen führen sollten (siehe Abb.4). Darüber hinaus könnten dimere oder tetramere Gallensäuremoleküle auch in biologische Membranen und analoge Modellsysteme eingebaut werden. Die Ionenpermeabilität in biologischen Membranen hängt von der Anwesenheit bestimmter Komponenten in der Membran ab, die in unterschiedlicher Weise den Ionentransport durch das unpolare Innere der Membran erleichtern können³⁴⁾. Es gibt Trägermoleküle, „Carrier“ (z.B. Kronenether oder

Valinomycin), die einen Transport der Ionen (z.B. Na^+ oder K^+) durch Diffusion erlauben. Daneben existieren

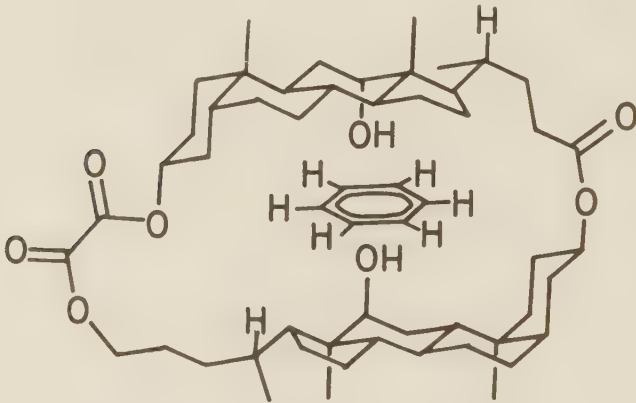


Abb.4: Benzoleinschlußverbindung eines zyklischen Dimeren aus Desoxycholsäure.

große, meist cyclische Moleküle mit Molekülhälften unterschiedlicher Polarität. Sie wirken als Bildner hydrophiler Kanäle durch das Membraninnere, während der hydrophobe Anteil die Löslichkeit in der Membran vermittelt. Als Beispiel eines solchen Porenbildners wurde Gramicidin A genauer untersucht³⁴⁾, das als dimeres Peptid mit seinen hydrophilen Amidbindungen einen hydratisierten Kanal bildet, während die hydrophoben Seitenketten der Aminosäuren (Isopropyl, Indol) in das Innere der Membran eingelagert sind. Die hydratisierten Poren in der Membran sind spezifisch durchlässig für bestimmte Kationen (z.B. Na^+ und K^+). Diese porenbildenden Moleküle besitzen bei manchen Bakterien antibiotische Wirkung. Das Steroidgerüst offenkettiger dimerer oder tetramerer Gallensäuremoleküle könnte als hydrophober Anteil eines solchen Tunnelbildners dienen, als hydro-

philer Teil kommen die Hydroxylgruppen in Frage. Aufgrund der Chiralität der Cholsäure sollten daraus stereoselektive Poren zugänglich sein.

In der vorliegenden Arbeit sollen dimere und tetramere cyclische Gallensäuremoleküle synthetisiert werden. Als Verknüpfungspunkte bieten sich die reaktive Hydroxylgruppe an C-3 und reaktive Derivate der Carbonsäurefunktion an C-24 an. Eine mögliche Bindungsknüpfung besteht in der Alkoholyse von Säurechloriden zu Carbonsäureestern.

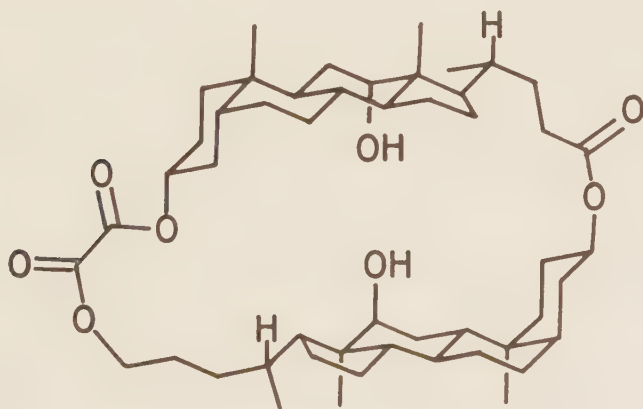


Abb.5: Dimeres aus Desoxycholsäure

Außerdem soll in dieser Arbeit die Möglichkeit der Synthese von dimeren Gallensäuremolekülen durch Verknüpfung der Hydroxylgruppen an C-3 über einen Bernsteinsäureester, ähnlich wie von Kuhl und Taubert³⁵⁾ für 3β -Hydroxy-4-androsten-17-on beschrieben, untersucht werden.

Eine weitere Möglichkeit der Verknüpfung von Gallensäuren besteht in der Bildung neuer C-C-Bindungen durch Wittig-Reaktion. Nach der Oxidation der Hydroxylgruppe

an C-3 zum Keton soll die Dimerisierung in einer einstufigen Reaktion mit Hilfe von zu synthetisierenden Bis-Wittigsalzen verschiedener Kettenlänge durchgeführt werden. Außerdem soll die Übertragbarkeit dieses Reaktionstyps auf andere große Moleküle untersucht werden.

2. Darstellung von zyklischen Dimeren aus Gallensäuren

Kratky und Giacomello²²⁻²⁸⁾ haben durch ihre Röntgenstrukturanalysen als erste die Struktur der schon lange bekannten Desoxycholsäureeinschlußverbindungen (Choleinsäuren) aufgeklärt. Sie stellten dabei fest, daß die Desoxycholsäuremoleküle in „Kopf-Schwanz“-Lage angeordnet sind und so im Innern einen Kanal freilassen (siehe Abb.3). Das Kanalinnere, in das die Hydroxylgruppen an C-12 ragen, ist hydrophil, während die Außenseite des Aggregates, gebildet durch das Steroidgerüst und die angulären Methylgruppen, hydrophobes Verhalten zeigt. Desoxycholsäure und Desoxycholsäureeinschlußverbindungen spielen eine führende Rolle in einer großen Anzahl biologischer Systeme. Es erscheint daher naheliegend, ein cyclisches Dimeres aus Gallensäuren, die Moleküle in „Kopf-Schwanz“-Anordnung, zu synthetisieren, um damit gezielt Einschlußverbindungen darstellen zu können.

2.1. Darstellung des zyklischen Dimeren aus Lithocholsäure 3

Ausgehend von zwei Molekülen Lithocholsäure 3 (3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-säure) soll durch Veresterung ein cyclisches Dimeres synthetisiert werden. Dazu muß zunächst die Aktivierung der Carboxylgruppe in der Seitenkette erfolgen. Eine Möglichkeit der Aktivierung besteht in der Darstellung eines Säurechlorides. Levin und Mitarbeiter³⁶⁾ beschreiben diese an 3 α -Hydroxy-12 α -acetoxy-nor-cholansäure mit Thionylchlorid ohne Schutz der 3 α -OH-Gruppe. Analog zu dieser Vorschrift durchgeführte eigene Versuche zur Darstellung des Lithocholsäurechlorides (3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-säurechlorid) aus Lithocholsäure 3 und Thionylchlorid haben jedoch immer zum nicht erwünschten 3-Chlorprodukt geführt, sodaß die Dimerenbildung durch direkte Veresterung von 3-Hydroxysäurechloriden miteinander nicht möglich war.

Eine andere Art der Aktivierung von Carboxylgruppen stellt die aus der Peptidsynthese bekannte Bildung eines Imidazolid³⁷⁾ dar. Die Reaktion läuft in zwei Schritten ab:

- 1.) N,N'-Carbonyldiimidazol reagiert mit der Carboxylgruppe unter Bildung einer reaktiven Zwischenstufe, des Carbonsäureimidazolid, Imidazols und CO₂.
- 2.) Die folgende Alkoholyse dieser Verbindung, die als aktuelles Acylierungsreagenz dient, ergibt die Bildung des Esters.

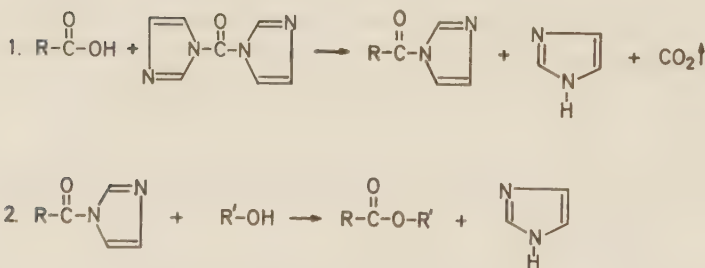


Abb.6

Beide, N,N'-Carbonyldiimidazol und das reaktive Zwischenprodukt, reagieren vehement mit Wasser. Die Reaktion muß also in wasserfreien Lösungsmitteln durchgeführt werden.

Aus Lithocholsäure 3 bildet sich nach Umsetzung mit N,N'-Carbonyldiimidazol unter den zitierten Bedingungen das Imidazolid, aber die Veresterung zum zyklischen Dimeren erfolgt nicht.

Die Reaktion von Alkoholen mit aktivierten Carbonsäurederivaten, wie sie in der Peptidsynthese gebraucht werden,

verläuft langsam, da Hydroxylgruppen viel schwächere nucleophile Eigenschaften aufweisen als Aminogruppen. Außerdem ist es von Vorteil, wenn man die Carbonsäurekomponente und N,N'-Carbonyldiimidazol zuerst reagieren läßt und den Alkohol erst später zugibt, wenn die CO₂-Entwicklung beendet ist. Dies kann durch die Reaktivität von OH-Gruppen gegen N,N'-Carbonyldiimidazol erklärt werden, die Folgereaktionen erlaubt, z.B. die Bildung des Imidazol-N-carbonsäureesters, obgleich OH-Gruppen nicht so reaktiv sind wie Carboxylgruppen. Weiterhin können natürlich auch sterische Gründe, die Größe des Imidazolidrestes, die Bildung des zyklischen Dimeren verhindert haben.

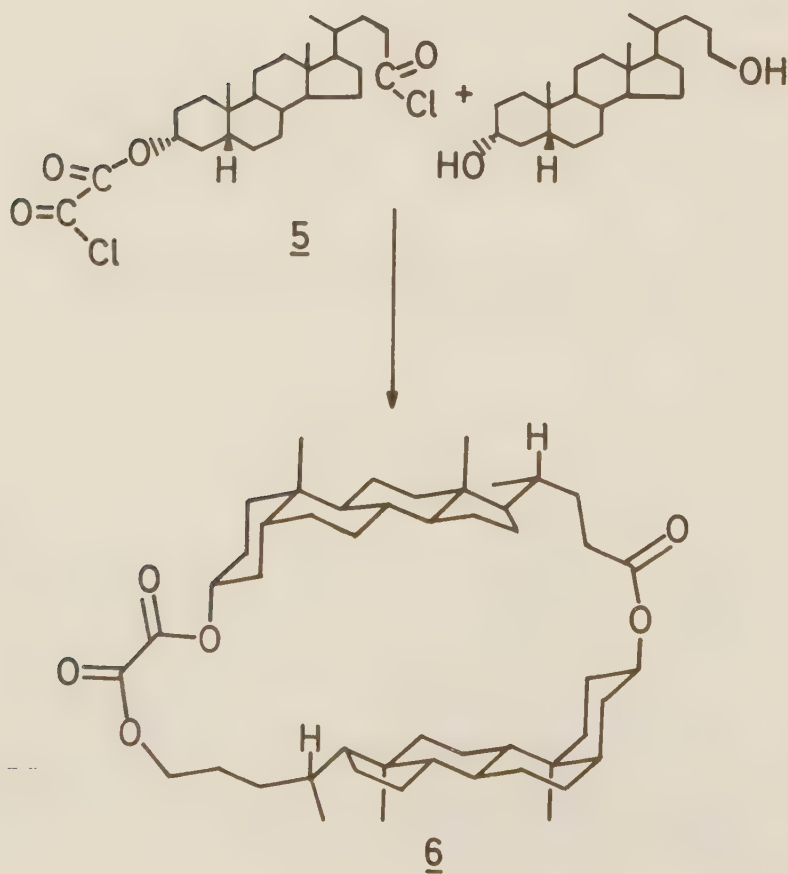
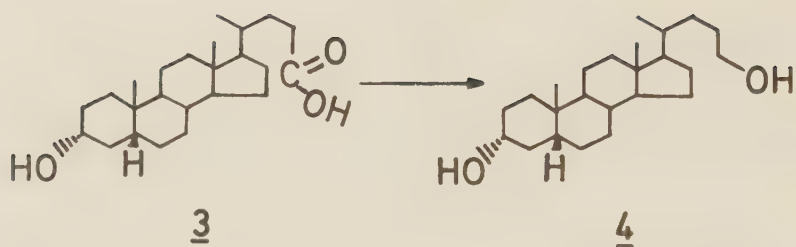
Die Bildung von zyklischen Dimeren durch Aktivierung der Carboxylgruppe in der Seitenkette und direkte Veresterung ist also nicht möglich. Es muß ein Reaktionsweg gewählt werden, der in mehreren Etappen verläuft. Aus der Lithocholsäure 3 (siehe Schema 1) wird durch Reduktion der Carboxylgruppe in der Seitenkette das 5 β -Cholan-3 α ,24-diol 4, welches dann mit dem aus Lithocholsäure 3 und Oxalylchlorid hergestellten 3 α -(2-Chlor-2-oxoacetyloxy)-5 β -cholan-24-oylchlorid 5 in großer Verdünnung zum zyklischen Dimeren 6 umgesetzt wird.

2.1.1. Darstellung von 5 β -Cholan-3 α ,24-diol 4

Lithocholsäure 3 wird durch Umsetzung mit Lithiumaluminiumhydrid in trockenem THF in guter Ausbeute zum 5 β -Cholan-3 α ,24-diol 4 reduziert.

Das IR-Spektrum zeigt die für einen Steroidalkohol zu erwartenden Banden. Die breite intensive OH-Bande bei $\nu = 3500 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ und die CH-Valenzschwingungen bei $\nu = 2920$ und $\nu = 2845 \text{ cm}^{-1}$ und im Vergleich zu Lithocholsäure 3 keine Säure-Carbonylschwingung bei $\nu = 1700 \text{ cm}^{-1}$ mehr.

Im ¹H-NMR-Spektrum treten neben dem Haufensignal des Steroidgrundgerüsts zwischen $\delta = 1,0$ und $\delta = 2,1$ ppm noch folgende charakteristische Signale auf. Die Protonen der beiden angulären Methylgruppen ergeben scharfe Singulets.



Das bei $\delta = 0,69$ ppm erscheinende Singulett wird der 18-CH₃-Gruppe und das bei $\delta = 0,94$ ppm erscheinende der 19-CH₃-Gruppe zugeordnet. Weiter ist ein Dublett bei $\delta = 0,96$ ppm zu registrieren, das der 21-CH₃-Gruppe zugeordnet werden kann. Als weiteres Charakteristikum tritt noch ein breites Signal bei $\delta = 3,54$ ppm auf, das dem Integral nach 3 Protonen entspricht. Es handelt sich dabei um das Signal der OH-Gruppen in Position 3 und 24 benachbarten Protonen. Das erhaltene Spektrum stimmt mit den Literaturdaten ³⁶⁾ gut überein.

Im Massenspektrum tritt der Pik höchster Masse bei 362 m/e auf. Er ist nur von geringer Intensität (2%). Dann erfolgt der Verlust von Wasser, von Ring A und von Ring D einschließlich der Seitenkette. Dies ergibt die Ionen bei

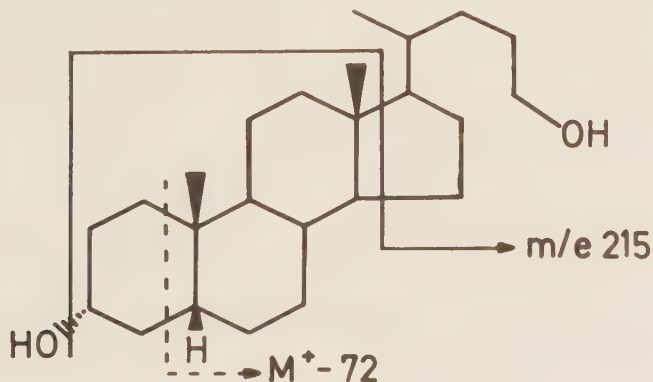


Abb.7

344 m/e ($M^+ - H_2O$), bei 290 m/e ($M^+ - \text{Ring A}$) und bei 215 m/e ($M^+ - H_2O - \text{Ring D}$). Diese Fragmentierung entspricht den Literaturdaten.

2.1.2. Darstellung von 3 α -(Chloroxoacetyloxy)-5 β -chololan-24-oylchlorid 5

Lithocholsäure 3 wird in Oxalylchlorid gelöst und eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird das

nicht umgesetzte Oxalylchlorid im Vakuum bei Raumtemperatur entfernt.

Im IR-Spektrum sind die charakteristischen Carbonylbanden für Säurechloride bei $\nu = 1786 \text{ cm}^{-1}$ und für Ester bei $\nu = 1748 \text{ cm}^{-1}$ zu beobachten.

Das Massenspektrum zeigt einen Molpik bei 486 m/e.

Dann erfolgt die Abspaltung von CH_3 und HCl , was die Piks bei 469 m/e und 448 m/e ergibt. Danach erfolgt die für die Gallensäuren typische Abspaltung der Seitenkette (363 m/e) sowie die Abspaltung des Ringes A (323 m/e).

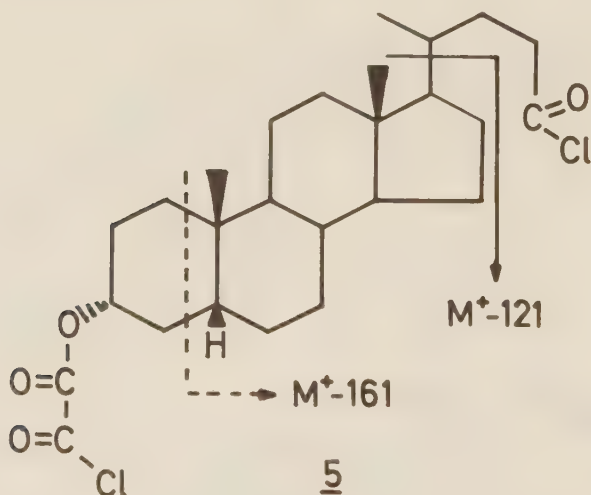


Abb.8

2.1.3. Darstellung von 3α-[(Carboxycarbonyl)oxy]-5β-cholan-24,3-(5β-cholan-3α,24-diyl)-ester 6

Zur Bildung des zyklischen Dimeren wird das Säurechlorid **5** in großer Verdünnung, zur Vermeidung von Polymerenbildung, in Stickstoffatmosphäre vorgelegt und die äquimolare Menge

des Dialkohols 4 in THF gelöst ganz langsam (ca. 1 Tropfen pro Minute) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird dann eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung und Chromatographie wurde in 24% Ausbeute ein neues Produkt isoliert.

Das IR-Spektrum zeigt neben den Banden für die CH-Valenzschwingungen bei $\nu = 2930 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2860 \text{ cm}^{-1}$ nur noch zwei charakteristische, intensive Banden bei $\nu = 1768 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 1735 \text{ cm}^{-1}$. Sie können laut Literatur³⁸⁾ den Carbo-nylschwingungen von Oxalsäureestern zugeschrieben werden.

Im ^1H -NMR-Spektrum tauchen wieder die beiden Singulett für die angulären Methylgruppen bei $\delta = 0,69 \text{ ppm}$ (18-CH_3) und bei $\delta = 0,95 \text{ ppm}$ (19-CH_3) sowie das Dublett für die Methylgruppe in der Seitenkette bei $\delta = 0,97 \text{ ppm}$ (21-CH_3) auf. Zwischen $\delta = 1,0 - 2,0 \text{ ppm}$ erscheinen die Signale des Steroidgrundgerüsts. Für den Strukturbeweis eines Dimeren sind jedoch die chemischen Verschiebungen der Protonen an den Verknüpfungsstellen entscheidend, d.h. man muß die chemische Verschiebung der Protonen an C-3 und C-23 in der Lithocholsäure 3 und die chemische Verschiebung der Protonen an C-3 und C-24 im Dialkohol 4 mit der der Protonen an den Verknüpfungsstellen vergleichen. (siehe Tabelle 1)

Verbindung Nr.	Chemische Verschiebung der Protonen an		
	C-3	C-23	C-24
<u>3</u>	$\delta = 3,60 \text{ ppm}$	$\delta = 2,20 \text{ ppm}$	--
<u>4</u>	$= 3,54 \text{ ppm}$	--	$\delta = 3,54 \text{ ppm}$
<u>6</u>	$= 4,82 \text{ ppm}$	$= 2,21 \text{ ppm}$	$= 4,17 \text{ ppm}$
<u>7</u>	$= 3,65 \text{ ppm}$	$= 2,30 \text{ ppm}$	--

Tabelle 1

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, ändert sich die chemische Verschiebung der Protonen an C-3 um $\delta = 1,28 \text{ ppm}$ sowie um $\delta = 1,22 \text{ ppm}$ zu tieferem Feld. Die chemische Verschiebung der Protonen an C-23 bleibt praktisch gleich

und die chemische Verschiebung der Protonen an C-24 ändert sich um $\delta = 0,63$ ppm zu tieferem Feld. Diese chemischen Verschiebungen liegen durchaus in dem Bereich, den man nach der Literatur⁴¹⁾ für diese Esterbildung erwarten würde (siehe Abb.9).

Das Massenspektrum zeigt den Molpik bei 774 m/e. Eine durchgeführte Elementaranalyse zeigt gute Übereinstimmung der berechneten und gefundenen Werte für Kohlenstoff und Wasserstoff.

Versuche, die Substanz zu kristallisieren, um eine Röntgenstrukturanalyse zu machen, führten bisher zu keinem positiven Ergebnis.



Abb.9: ¹H-NMR-Spektrum von Verbindung 6

2.1.4. Darstellung von 3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-säure-methylester 7

Als Referenzverbindung für Spektroskopie und Dünnschichtchromatographie wird aus Lithocholsäure 2 durch Umsetzung mit Diazomethan⁴²⁾ der Lithocholsäuremethylester 7 (3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-säure-methylester) in hoher Ausbeute hergestellt.

Im IR-Spektrum sind zwischen $\nu = 3600 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 3200 \text{ cm}^{-1}$ die intensiven Banden der OH-Valenzschwingung und bei $\nu = 2920 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2855 \text{ cm}^{-1}$ die Banden der CH-Valenzschwingungen zu finden. Bei $\nu = 1720 \text{ cm}^{-1}$ liegt die Ester-carbonylschwingung.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt bei $\delta = 0,66 \text{ ppm}$ und $\delta = 0,94 \text{ ppm}$ die Singulett für die angulären Methylgruppen an C-18 und C-19, das Dublett für die Methylgruppe in der Seitenkette liegt bei $\delta = 0,94 \text{ ppm}$. Bei $\delta = 2,3 \text{ ppm}$ befindet sich das Multiplett für die zwei Protonen an C-23. Das der OH-Gruppe an C-3 benachbarte Proton erscheint als Multiplett bei $\delta = 3,65 \text{ ppm}$. Die Protonen der OCH_3 -Gruppe ergeben ein Singulett bei $\delta = 3,68 \text{ ppm}$.

Im Massenspektrum findet sich der Molpik bei 300 m/e. Danach folgt die für die Hydroxy-Gallensäuren typische Wasserabspaltung, die zu dem Ion 372 m/e führt.

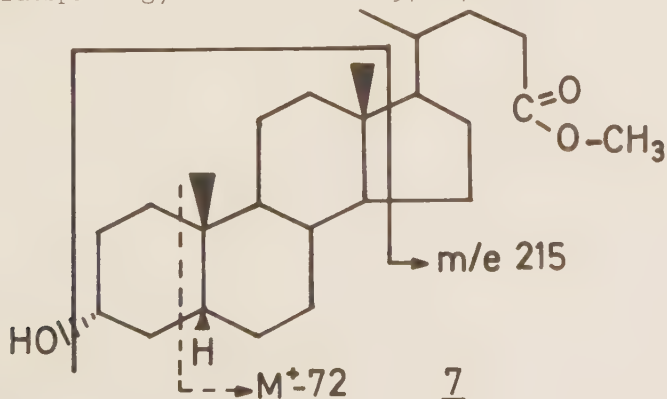


Abb. 10

Anschließend folgt die Abspaltung des Ringes D mit der Seitenkette und die Abspaltung des Ringes A. Dies führt zu den Ionen m/e 318 (M^+ - Ring A) und m/e 215 (M^+ - H_2O - Ring D). Diese Fragmentierung steht im Einklang mit der Literatur³⁹⁾.

2.2. Zyklische Dimere aus Desoxycholsäure 2

2.2.1. Darstellung von 5 β -Cholan-3 α ,12 α ,24-triol 8

Aus Desoxycholsäure 2 wird durch Reduktion mit Lithium-aluminiumhydrid in wasserfreiem THF in guter Ausbeute das 5 β -Cholan-3 α ,12 α ,24-triol 8 hergestellt.

Im IR-Spektrum treten, wie erwartet, nur die intensiven Banden für die OH-Valenzschwingung zwischen $\nu = 3640\text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 3100\text{ cm}^{-1}$ und die Banden für die CH-Valenzschwingungen bei $\nu = 2930\text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2847\text{ cm}^{-1}$ auf.

Die Protonen der angulären Methylgruppen an C-18 und C-19 erscheinen im 1H -NMR-Spektrum als Singulett bei $\delta = 0,73\text{ ppm}$ und $\delta = 0,94\text{ ppm}$. Ein Dublett ergeben die Protonen der Methylgruppe in der Seitenkette bei $\delta = 1,01\text{ ppm}$. Weitere für diese Verbindung charakteristische Signale werden durch die den OH-Gruppen benachbarten Protonen verursacht. So geben das Proton an C-3 und die beiden Protonen an C-24 ein breites Multiplett bei $\delta = 3,53\text{ ppm}$, und das Proton, das der 12 -OH-Gruppe benachbart ist, ergibt ein Multiplett bei $\delta = 3,98\text{ ppm}$.

Das Massenspektrum zeigt das typische Fragmentierungsmuster für Polyhydroxygallensäuren.

Der Molpik bei $M^+ = 378\text{ m/e}$ erscheint nur sehr schwach (2%). Dann wird nacheinander zweimal Wasser abgespalten. Anschließend erscheinen wieder die typischen Fragmente für das Steroidgerüst (siehe Abb.11). Zunächst erscheint der Pik für $M^+ - H_2O$ - Ring A bei 288 m/e , dann der Pik für $M^+ - H_2O$ - Seitenkette bei 273 m/e und schließlich der Pik bei 214 m/e für $M^+ - 2 H_2O$ - Ring D. Die Fragmentierung stimmt mit der Literatur überein³⁹⁾.

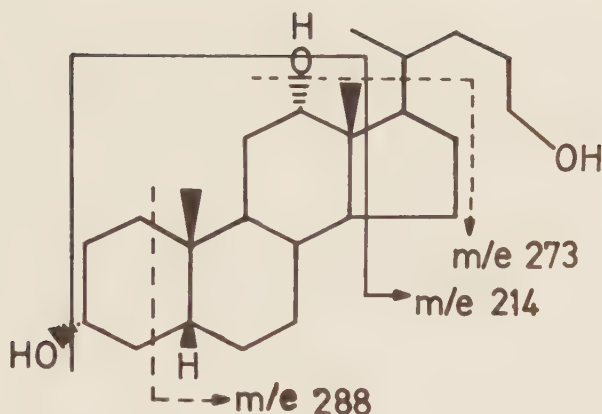


Abb. 11

2.2.2. Darstellung von 3a-(2-Chlor-2-oxoacetyloxy)-12-hydroxy-5 β -cholan-24-oylchlorid 9

Desoxycholsäure 2 wird mit Oxalylchlorid im Überschuß bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach der Aufarbeitung fällt ein gelbliches, zähes Öl an.

Das aufgenommene IR-Spektrum zeigt von $\nu = 3500 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ eine Bande für die OH-Valenzschwingung. Die bei $\nu = 2936 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2864 \text{ cm}^{-1}$ erscheinenden Banden sind den CH-Valenzschwingungen zuzuordnen. Bei $\nu = 1786 \text{ cm}^{-1}$ findet man die Carbonylbande für das Säurechlorid und bei 1748 cm^{-1} die Carbonylbande für den Oxalsäureester.

Das Massenspektrum zeigt keinen Molpik. Ryhage⁴³⁾ und später Bergström⁴⁴⁾ haben einige Polyhydroxygallensäuren untersucht und in den aufgenommenen Massenspektren gewöhnlich keinen Molpik gefunden. Sie haben ein Massenspektrometer mit geheiztem Einlaßsystem benutzt. Dean und Apelin⁴⁵⁾ haben eine große Anzahl von Gallensäuren massenspektroskopisch untersucht und dabei ein Gerät mit Direkt-einlaßsystem benutzt, das ihnen das Auffinden der Moleküleionen ermöglichte. Das Fehlen des Molpiks ist bei solchen Verbindungen also nichts Außergewöhnliches. Der Pik höch-

ster Masse tritt dann bei 482 m/e auf. Es ist also Wasser abgespalten worden. Dann erfolgt die Abspaltung einer Methylgruppe, was zu einem Pik 467 m/e führt. Im Anschluß daran erfolgt die Abspaltung von HCl (446 m/e), vom Rest an C-3 (375 m/e) und der Seitenkette (363 m/e).

2.2.3. Darstellung von 3 α -[(Carboxycarbonyl)oxy]-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-säure-24,3-(12 α -hydroxy-5 β -cholan-3 α ,24-diyl)-ester 10

Mit der oben beschriebenen Verbindung 9 wird das 5 β -Cholan-3 α ,12 α ,24-triol 8 in großer Verdünnung, zur Vermeidung von Polymerbildung, umgesetzt. Nach üblicher Aufarbeitung und Chromatographie konnte die Verbindung 10 in guter Ausbeute (61,5% d.Th.) rein isoliert werden.

Das IR-Spektrum zeigt bei $\nu = 3638 \text{ cm}^{-1}$ und von $\nu = 3500 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ Banden für die OH-Valenzschwingung. Das Vorhandensein der OH-Banden bedeutet, daß die OH-Gruppen an C-12 noch vorhanden sind. Außerdem treten noch die charakteristischen Carbonylbanden bei $\nu = 1757 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 1732 \text{ cm}^{-1}$ für den Oxalsäureester⁴⁰⁾ auf.

Im ^1H -NMR-Spektrum zeigen sich wieder die für die Gallensäuren typischen Methylgruppensignale. Die Protonen der angulären Methylgruppen erscheinen als Singuletts bei $\delta = 0,68 \text{ ppm}$ (18-CH_3) und $\delta = 0,76 \text{ ppm}$ (19-CH_3), die Protonen der Methylgruppe in der Seitenkette ergeben ein Dublett bei $\delta = 0,93 \text{ ppm}$. Für den Strukturbeweis jedoch ist die chemische Verschiebung der Protonen an den Verknüpfungsstellen entscheidend.

In Tabelle 2 sind die Daten zusammen gestellt.

Die chemische Verschiebung der Protonen an C-3 ändert sich um $\delta = 1,38 \text{ ppm}$ und $\delta = 1,73 \text{ ppm}$ nach tieferem Feld. Sie erscheinen als breite Multipletts bei $\delta = 4,88 \text{ ppm}$ und $\delta = 5,26 \text{ ppm}$. Das Multiplett für die Protonen an C-23 hat seine Lage kaum verändert. Es befindet sich bei $\delta = 2,27 \text{ ppm}$. Die chemische Verschiebung der Protonen an C-24 hat

sich ebenfalls nach tieferem Feld und zwar um $\delta = 0,77$ ppm verändert. Das Multipllett liegt bei $\delta = 4,30$ ppm. Die chemische Verschiebung für die den 12-OH-Gruppen benachbarten Protonen hat sich nicht verändert. Ihr Multipllett erscheint bei $\delta = 3,98$ ppm, d.h. sie sind aus den Reaktionen zur Dimerenbildung unversehrt hervorgegangen, ein wichtiger Aspekt für die Bildung von Einschlußverbindungen.

Verbindung Nr.	Chemische Verschiebung der Protonen an C-3	C-23	C-24
<u>2</u>	$\delta = 3,50$ ppm	$\delta = 2,20$ ppm	--
<u>8</u>	$= 3,53$ ppm	--	$\delta = 3,53$ ppm
<u>10</u>	$= 4,88$ ppm $= 5,26$ ppm	$= 2,27$ ppm	$= 4,30$ ppm
<u>11</u>	$= 3,62$ ppm	$= 2,32$ ppm	--

Tabelle 2

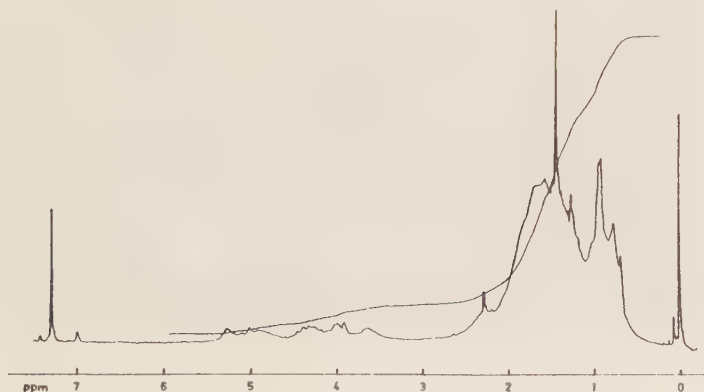


Abb. 12: ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung 10

Im Massenspektrum findet sich der Pik höchster Masse bei 806 m/e. Er entspricht dem Molpik, ist aber wie bei allen Polyhydroxygallensäuren wenig intensiv^{41,42)} (13%). Der M^+ - 18-Pik bei 788 m/e, Abspaltung von 1 Mol H_2O , ist etwas intensiver (39%). Basispik ist das Ion 770 m/e, das der Abspaltung von 2 Mol H_2O entspricht.

Versuche, das oben beschriebene Dimere 10 zu kristallisieren, um eine Röntgenstrukturanalyse zu machen, schlugen fehl. Gleichzeitig wurde versucht, aus dem Dimeren 10 und Hexan, Benzol und Toluol Einschlußverbindungen herzustellen. Es war aber unmöglich, Kristalle zu bekommen.

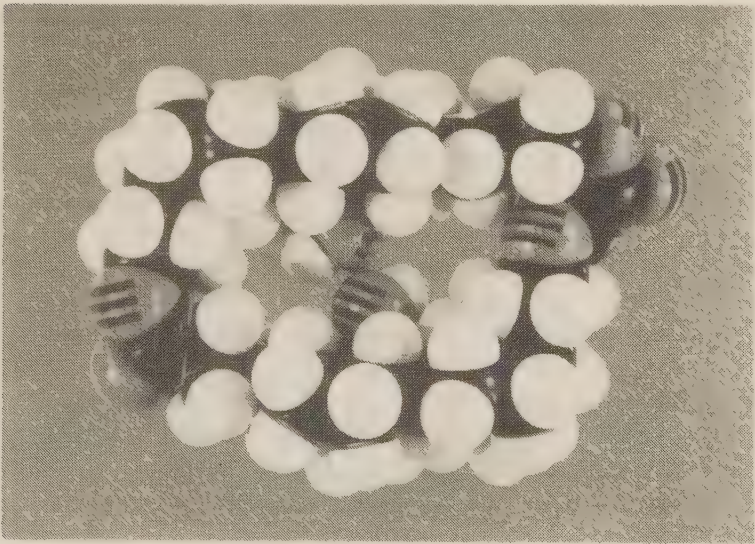


Abb.13: Zyklisches Dimeres aus Desoxycholsäure

Parallel zu den Kristallisationsversuchen mit dem Dimeren 10 liefen Versuche, analog zu Fieser⁶⁾, Hämin in Cholsäure 1 bzw. Desoxycholsäure 2 einzuschließen.

Dazu wird Hämin in heißem absoluten Ethanol suspendiert und unterschiedliche Mengen Steroid hinzugegeben. Dann wird filtriert und langsam abgekühlt. Die Versuchsreihe mit Desoxycholsäure 2 ergab keine Kristalle. In der Cholsäurereihe konnten bei einer Probe schöne, große Cholsäurekristalle isoliert werden.



Kristallisierte Cholsäure 1

2.2.4. Darstellung von 3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure-methylester 11

Zu spektroskopischen und dünnschichtchromatographischen Vergleichen wird aus Desoxycholsäure 2 durch Umsetzung mit Diazomethan ⁴²⁾ der 3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure-methylester 11 hergestellt.

Im IR-Spektrum sind zwischen $\nu = 3600 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 3200 \text{ cm}^{-1}$ intensive OH-Banden zu sehen. Die CH-Valenzschwingungen erscheinen bei $\nu = 2925 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2860 \text{ cm}^{-1}$. Bei $\nu = 1730 \text{ cm}^{-1}$ erscheint eine starke Carbonylbande für den Ester.

Im ^1H -NMR-Spektrum ergeben die Protonen der angulären Methylgruppen zwei Singulets, bei $\delta = 0,68 \text{ ppm}$ die 18-Methylgruppe und bei $\delta = 0,92 \text{ ppm}$ die 19-Methylgruppe. Die Protonen der Methylgruppe in der Seitenkette ergeben ein Dublett bei $\delta = 0,98 \text{ ppm}$. Das Multiplett bei $\delta = 2,32 \text{ ppm}$ liefern die beiden Protonen an C-23, die der Estergruppierung benachbart sind. Ein weiteres breites Multiplett befindet sich bei $\delta = 3,62 \text{ ppm}$ und stammt von dem Proton an C-3, benachbart der 3-OH-Gruppe. Die Methylgruppe des Esters erscheint als Singulett bei $\delta = 3,67 \text{ ppm}$. Das Proton, das der 12-OH-Gruppe benachbart ist, ergibt das Multiplett bei $\delta = 3,98 \text{ ppm}$.

Der Desoxycholsäuremethylester 11 zeigt im Massenspektrum den Molpeak bei $M^+ = 406 \text{ m/e}$. Nach zweimaliger Wasserabspaltung kommt man zum Ion 370 m/e , das dem Basispeak entspricht.

2.2.5. Darstellung von 3 α -(3-Carboxy-1-oxopropoxy)-5 β -cholan-24-säure 12

Die synthetisierten und beschriebenen cyclischen Dimeren 6 und 10 erwiesen sich in Lösung als zu instabil und hydrolyseanfällig. Außerdem gelang es nicht, Einschlußverbindungen mit Verbindung 10 zu erhalten.

H. Kuhl und H.D. Taubert³⁵⁾ beschreiben die Synthese von Dimeren aus 3β -Hydroxy-4-androsten-17-on. Die Synthese eines cyclischen Desoxycholsäuredimeren, verbrückt über einen Bernsteinsäureester, ergibt durch die Verlängerung der Brücke um zwei C-Atome einen größeren Hohlraum im Innern des cyclischen Dimeren. Einschlußverbindungen sollten mit einem solchen Dimeren leichter darstellbar sein.

Als Modellverbindung dient wieder die Lithocholsäure 3. Sie wird in Pyridin mit Bernsteinsäureanhydrid bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach Aufarbeitung erhält man in guter Ausbeute (77% d.Th.) das Hemisuccinat 12.

Das IR-Spektrum zeigt bei $\nu = 3600 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ eine starke Bande für die OH-Valenzschwingung. Bei $\nu = 2940 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2870 \text{ cm}^{-1}$ finden sich zwei Banden für die C-H-Valenzschwingungen. Im Bereich der Carbonylschwingungen enthält das Spektrum zwei intensive Banden. Die Ester-carbonylschwingung bei $\nu = 1738 \text{ cm}^{-1}$ und die Säure-carbonylschwingung bei 1710 cm^{-1} .

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum findet man für die angulären Methylgruppen zwei Singulettts bei $\delta = 0,63 \text{ ppm}$ (18-CH_3) und bei $\delta = 0,91 \text{ ppm}$ (19-CH_3). Die Protonen der Methylgruppe in der Seitenkette erscheinen als Dublett bei $\delta = 0,91 \text{ ppm}$. Ein Singulett bei $\delta = 2,58 \text{ ppm}$ ergeben die vier Protonen des Bernsteinsäurerestes. Das Proton an C-3 erscheint bei $\delta = 3,63 \text{ ppm}$ als Multiplett (siehe Tabelle 3).

2.2.6. Darstellung von $3\alpha,3'\alpha$ -[(1,4-Dioxobutandiyl)bis(oxy)]bis[5β -cholan-24-ol] 13

Zur Dimerenbildung muß zuerst die Carboxylgruppe aktiviert werden. Dies geschieht nach Staab und Mannschreck³⁷⁾ durch Umsetzung des Hemisuccinates 12 mit N,N'-Carboxyldiimidazol. Nach Bildung der reaktiven Zwischenstufe, des Imidazolidis, und Zugabe des 5β -Cholan- $3\alpha,24$ -diols 4 sollte sich dann durch Esterbildung das Dimere 13 bilden. Nach Aufar-

¹H-NMR-Daten

Verbindung	Chemische Verschiebung der Protonen in δ -Werten an folgenden C-Atomen						
Nr.	C-3	C-12	C-18	C-19	C-21	C-23	C-24
<u>2</u>	3,50 ppm	3,95 ppm	0,70 ppm	0,92 ppm	1,00 ppm	2,20 ppm	--
<u>3</u>	3,60 ppm	--	0,66 ppm	0,93 ppm	0,93 ppm	2,20 ppm	--
<u>4</u>	3,54 ppm	--	0,69 ppm	0,94 ppm	0,96 ppm	--	3,54 ppm
<u>6</u>	4,82 ppm	--	0,69 ppm	0,95 ppm	0,97 ppm	2,21 ppm	4,17 ppm
<u>7</u>	3,65 ppm	--	0,66 ppm	0,94 ppm	0,93 ppm	2,30 ppm	--
<u>8</u>	3,53 ppm	3,98 ppm	0,73 ppm	0,94 ppm	1,01 ppm	--	3,53 ppm
<u>10</u>	4,88 ppm 5,26 ppm	3,98 ppm	0,68 ppm	0,76 ppm	0,93 ppm	2,27 ppm	4,30 ppm
<u>11</u>	3,62 ppm	3,98 ppm	0,68 ppm	0,92 ppm	0,98 ppm	2,32 ppm	--
<u>12</u>	3,63 ppm	--	0,63 ppm	0,91 ppm	0,91 ppm	--	--

Tabelle 3

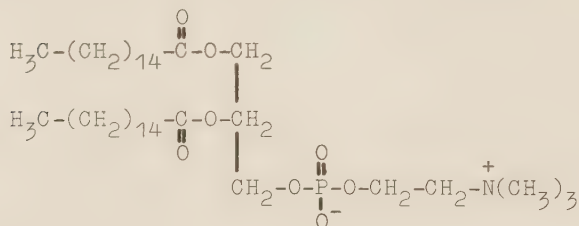
beitung der Reaktionsmischungen konnten jeweils nur die Edukte zurückgewonnen werden. Das Diol 4 hat nicht mit dem gebildeten Imidazolid reagiert. Dies ist mit den relativ schwachen nucleophilen Eigenschaften der Alkohole zu erklären.

2.3. Einbau von Gallensäuren in Membranen

Desoxycholsäure 2 und das im Laufe dieser Arbeit synthetisierte Dimere aus Desoxycholsäure soll in Vesikel eingebaut werden.

Amphiphile organische Verbindungen, die in Wasser schwerlöslich sind und bei denen das hydrophobe Kohlenwasserstoffgerüst etwa den gleichen Querschnittsradius hat wie eine hydrophile Kopfgruppe, tendieren im wäßrigen Medium zur Ausbildung ausgedehnter bimolekularer Schichten, abgekürzt „BLM“ genannt (vom englischen „bilayer lipid membrane“)⁴⁶⁾. Lagern sich mehrere solcher hydratisierter BLM's zusammen, kommt es zur Ausbildung der seit langem bekannten Myelinstrukturen. Die Aggregate mit Myelinstrukturen können als einfache Modelle für Neuron-Membranen angesehen werden.

Schlägt man nun mit Hilfe von Ultraschall Aggregatblöcke aus diesen wasserunlöslichen Myelinstrukturen heraus, so werden sphärische BLM's hoher Krümmung gebildet. Sie sind wasserlöslich und sehen im Elektronenmikroskop wie isolierte biologische Zellen aus⁴⁷⁾. Diese kugelförmigen oder ellipsoiden BLM-Körper heißen Vesikel (lat. vesicula = Bläschen). Von den natürlich vorkommenden Substanzen sind vor allem Phospholipide, z.B. Lecithine, geeignet, in wäßriger Lösung solche Vesikel zu bilden⁴⁸⁾.



Lecithin (DL- -Dipalmitoylphosphatidylcholin)

In solche Lecithin-Vesikel sollen die Gallensäuren eingebaut werden.

2.5.1. Präparation und Charakterisierung von Vesikeln

Die am häufigsten verwendete Methode zur Bildung von Vesikeln besteht in der Behandlung wäßriger Suspensionen mit Ultraschall. Dazu wird die amphiphile Verbindung im wäßrigen Medium dispergiert oder als Substanzfilm an der Wandung des Gefäßes aufgebracht, in dem die Beschallung erfolgt. Die Dauer und die Intensität der Beschallung sowie die Temperatur⁴⁹⁾ richten sich nach den vesikelbildenden Eigenschaften der jeweiligen Verbindung.

Ein erstes Zeichen für die erfolgte Bildung von Vesikeln ist das Verschwinden der milchigen Trübung. Es entstehen dabei klare Lösungen, die aber auf Grund des Tyndall-Effektes je nach Aggregat- bzw. Vesikelgröße und der Konzentration stärker oder schwächer opaleszieren⁵⁰⁾.

Andere Methoden, die als Nachweis für Vesikel gelten, sind die Gelchromatographie an Sephadex, das Einschließen von Farbstoffen im Innenraum der Vesikel oder in der Vesikelmembran und anschließende Gelchromatographie, Schlierenmuster bei der Ultrazentrifugation und die Elektronenmikroskopie^{46,51-54)}.

Für die Elektronenmikroskopie müssen die Vesikel so präpariert werden, daß die Bläschenstruktur im Hochvakuum des Elektronenmikroskopes noch sichtbar bleibt. Dies wird durch negative Kontrastierung mit Schwermetallsalzen erreicht. Die Struktur wird dabei so geschützt, wie sie im Wasser vorhanden ist.

Zur Präparation der Trägernetze mit der Vesikellösung für die Transmissionselektronenmikroskopie wurde die Tröpfchenmethode⁵⁵⁾ benutzt.

Eine weitere Möglichkeit zur Charakterisierung von Vesikeln besteht in der Bestimmung der Phasenübergangstemperatur. Die Kohlenwasserstoffketten der BLM's „schmelzen" etwa bei 36 °C und gehen dabei vom kristallinen in den flüssig-kristallinen Zustand über. Zur Herstellung

homogener, lochfreier BLM-Vesikel empfiehlt sich eine Beschallung oberhalb der Phasenübergangstemperatur. Beschallung unterhalb dieser Phasenübergangstemperatur führt häufig zu Vesikeln mit defekten Membranen, die zur Ausbildung von Vesikel-Aggregaten neigen.

2.3.1.1. Präparation und Charakterisierung von Vesikeln aus Lecithin und Desoxycholsäure

Nach der allgemeinen Methode, in 6.1.11. beschrieben, wurde DL- -Dipalmitoylphosphatidylcholin (Lecithin) mit 10 % Desoxycholsäure in tridest. Wasser zweimal 15 Minuten beschallt. Nach Ende der Beschallung war die Temperatur auf 50 - 60 °C angestiegen. Die schwach opaleszierende Lösung war nur wenige Stunden stabil.

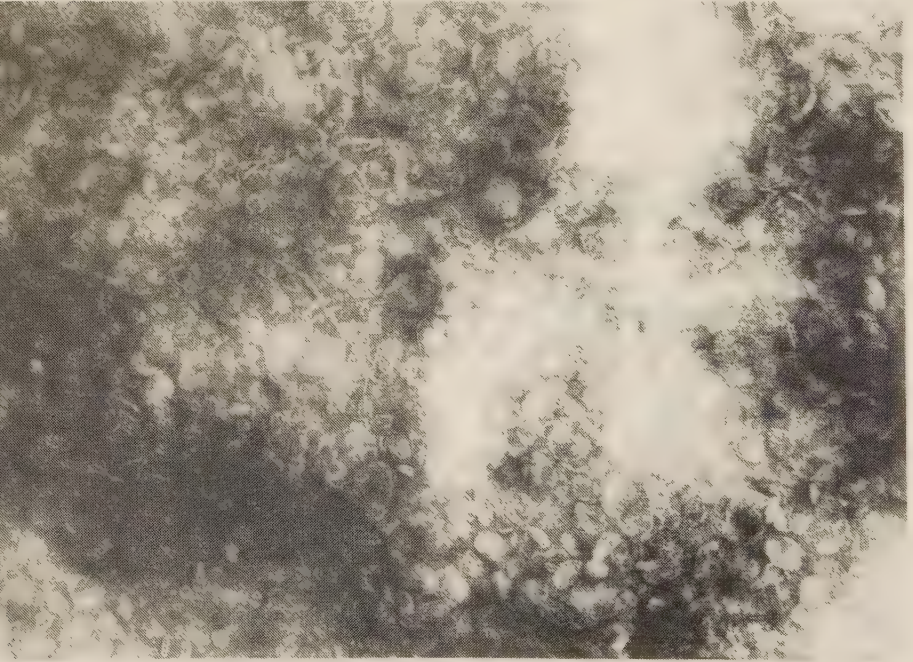


Abb.14: Vesikel aus Lecithin und 10 % Desoxycholsäure,
Vergrößerung 40 000

Zur Elektronenmikroskopie wurden die mit Formvar oder Kohle befilmten Trägernetze mit 1 %iger Uranylacetatlösung kontrastiert. Es wurden sphärische Vesikel von 500 - 750 Å Durchmesser gefunden.

Der Phasenübergang für Lecithin-Vesikel liegt bei 41 °C^{56,57)}. Chapman und Mitarbeiter⁵⁸⁾ haben verschiedene Mengen Cholesterin in Lecithin-Vesikel eingebaut und den Einfluß des Cholesterins auf die Phasenübergangstemperatur untersucht. Sie stellten fest, daß mit zunehmendem Cholesterinanteil die Phasenübergangstemperatur sinkt und eine Verbreiterung der Signale auftritt. Es wäre also für die Lecithin-Desoxycholsäure-Vesikel eine Phasenübergangstemperatur < 41 °C zu erwarten. Der Phasenübergang wurde mit Hilfe der Differentialthermoanalyse bei 36 °C bestimmt.

2.3.1.2. Präparation und Charakterisierung von Vesikeln aus Lecithin und dem Dimeren 10

Lecithin und 10 % des Dimeren 10 wurden, wie unter 2.3.1.1. beschrieben, beschallt. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigten sphärische Vesikel von 250 - 750 Å Durchmesser (siehe Abb. 15).

Die Phasenübergangstemperatur wurde bei 35 °C gemessen.

2.3.1.3. Versuche zur Präparation von Vesikeln aus Desoxycholsäure

Desoxycholsäure wurde in tridest. Wasser 30 Minuten beschallt. Dabei erwärmte sich die Lösung auf 50 - 60 °C. Es bildete sich eine Suspension, die nicht klar wurde. Vesikel konnten nicht nachgewiesen werden.

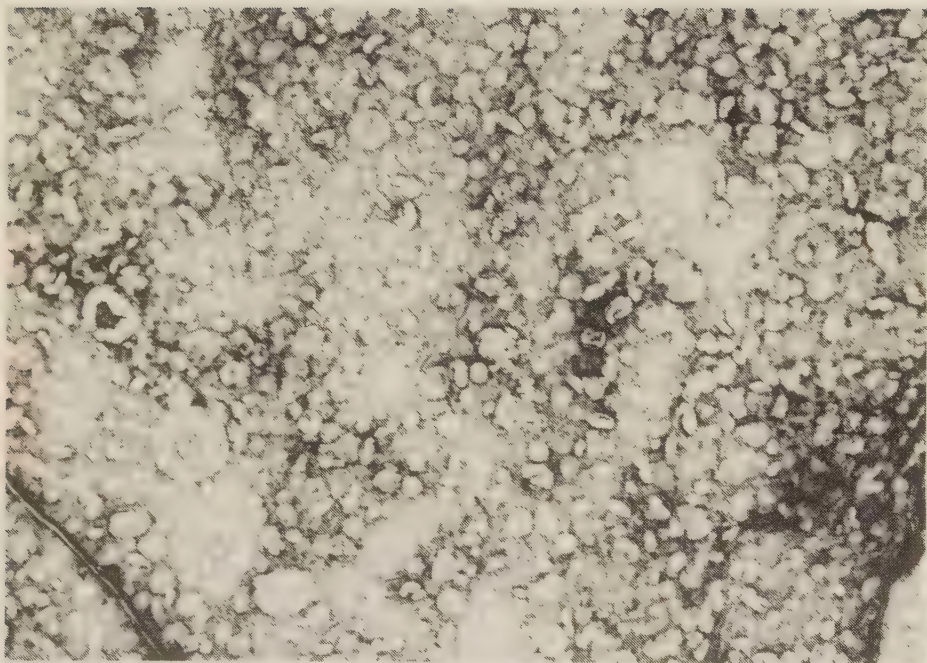


Abb. 15: Vesikel aus Lecithin und 10 % des Dimeren 10
Vergrößerung 40 000

2.3.1.4. Versuche zur Präparation von Vesikeln aus
3 α -(3-Carboxy-1-oxopropoxy)-5 β -cholan-24-
säure 12

Verbindung 12 wurde in tridest. Wasser 30 Minuten beschallt. Die dabei entstehende Suspension erwärmt sich auf ca. 60 °C, wird aber nicht klar. Vesikelbildung konnte nicht festgestellt werden.

3. Versuche zur Darstellung von zyklischen Tetrameren aus Gallensäuren

Nach erfolgreicher Synthese von zyklischen Dimeren aus Lithocholsäure 3 und Desoxycholsäure 2 soll nun versucht werden, vier Moleküle Desoxycholsäure zu einem Makrocyc-
lus zu verknüpfen. Verknüpfungsstellen sollen wieder die 3α -OH-Gruppen sowie die Carboxylgruppen in den Seitenket-
ten sein.

Schmidt und Mitarbeiter⁵⁹⁾ stellten 1976 totalsynthetisch Nonactin 14 her. Nonactin ist aus vier Molekülen Nonactin-
säure 15 aufgebaut. Der Aufbau erfolgt systematisch vom



Abb.16: Nonactinsäure 15

„Monoester“ zum „Diester“ und dann weiter zum „Tetraester“. Ringschluß des Tetraesters führt dann zum Nonactin 14.

Analog zu dieser Synthese des Nonactins 14 soll bei der Darstellung eines cyclischen Tetrameren aus Desoxychol-
säure 3 vorgegangen werden, d.h. es sollen durch Vereste-
rung offenkettige Dimere gebildet werden. Dazu benötigt
man jedoch zwei Sauerstoffmaskierungen, für die Carboxyl-
gruppe des zu acylierenden Moleküls und die Hydroxylgruppe
des acylierenden Moleküls. Jede dieser beiden Schutzgruppen
muß unabhängig von der anderen gelöst werden können und
außerdem dürfen dabei schon geschlossene Esterbindungen in
Dimeren, Trimeren und Tetrameren nicht angegriffen
werden. Die Wahl fiel in unserem Falle auf den Benzylester
für die Carboxylgruppe und den Tetrahydropyranylether für

die OH-Gruppe. Der Benzylester ist leicht zugänglich aus dem Natriumsalz der Carbonsäure und Benzylchlorid.

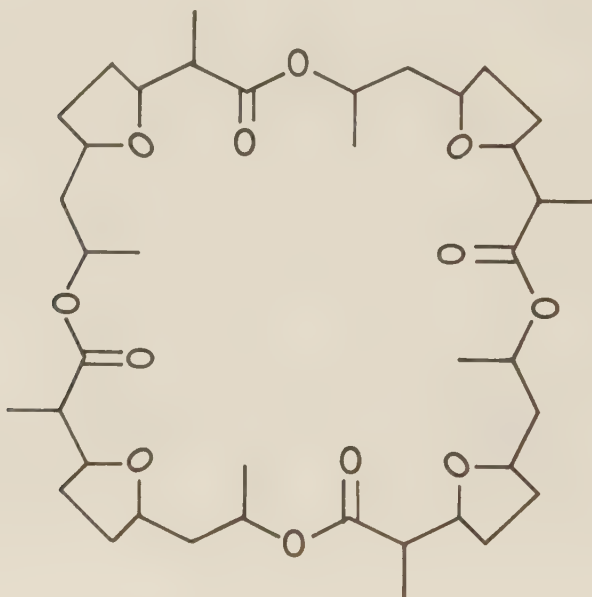


Abb.17: Nonactin 14

Die nucleophile Benzylierung der Natriumcarboxylate verläuft mit besserer Ausbeute als die Veresterung der freien Carbonsäuren mit Phenyldiazomethan. Gespalten wird der Benzylester hydrogenolytisch. Ott⁶⁰⁾ und Dauben⁶¹⁾ haben verschiedene Steroide mit 2,3-Dihydropyran 16 umgesetzt und die entsprechenden 2-Tetrahydropyranylether 17 in Ausbeuten um 70% erhalten. Die Steroidtetrahydropyranylether waren stabil bei Lithiumaluminiumhydridreduktionen und unter Acylierungsbedingungen.

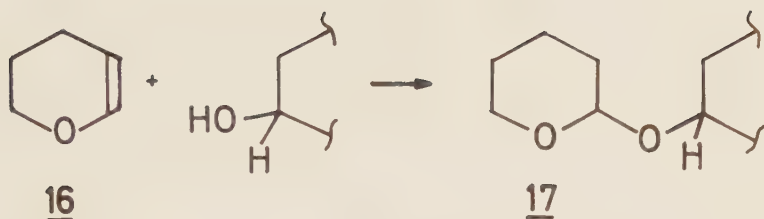


Abb.18

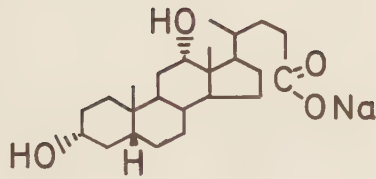
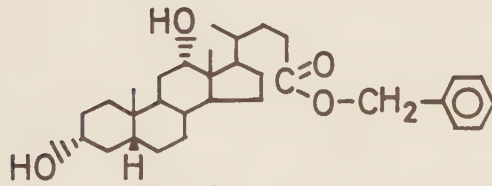
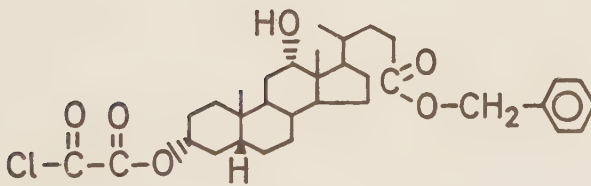
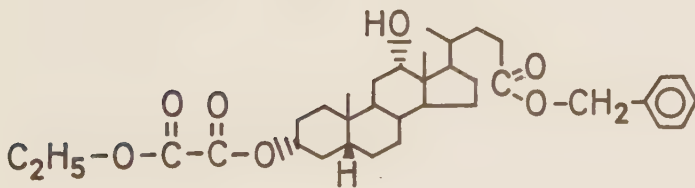
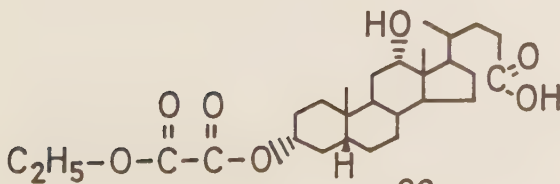
Verwendet man jedoch wie van Boom⁶²⁾ p-Toluolsulfonsäuremonohydrat als Katalysator, so erreicht man nahezu quantitative Ausbeuten in Reaktionszeiten von Minuten. Die Schutzgruppe kann leicht quantitativ durch Erhitzen in saurer, wäßriger, alkoholischer Lösung (pH 3) wieder abgespalten werden.

Der Aufbau des Makrocyclus soll sukzessive erfolgen, d.h. zunächst werden Komponenten aufgebaut, die aus je zwei Molekülen Desoxycholsäure 2 bestehen. Nach der Verknüpfung dieser beiden Komponenten erhält man ein offenkettiges „Tetrameres“. Der Ringschluß soll dann nach der „Pyridinthiolester-Methode“ von Corey^{63,64)} erfolgen. Diese Methode in ihren verschiedenen Abwandlungen hat sich in den letzten Jahren zur Bildung makrocyclischer Lactone aus Hydroxysäuren bestens bewährt. Die Beobachtung, daß **α** -Acylmercaptopyridine energiereiche Acylierungsmittel sind, ist zuerst am Beispiel der sehr leichten Acylübertragung auf Anilin gemacht worden⁶⁵⁾. Wertvoll für die organische Synthese wurde diese Acylübertragung aber erst, als Mukaiyama⁶⁶⁾ zeigte, daß **α** -Acylmercaptopyridine überaus einfach aus Carbonsäuren, **α, α'** -Dipyridyldisulfid und Triphenylphosphin zugänglich sind. Mit dieser Reaktion ist es möglich, eine freie Carbonsäure unter milden Bedingungen in ein energiereiches Carbonsäurederivat umzuwandeln. Mukaiyama selbst hat diese Reaktion schon zur Knüpfung von Peptidbindungen benutzt⁶⁷⁾. Zur Lactonringbildung hat

Corey⁶³⁾ die α -Mercaptopyridinester von ω -Hydroxysäuren herangezogen, die aus Hydroxysäure, Dipyridyldisulfid und Triphenylphosphin nach Mukaiyama leicht zugänglich sind. Die Lactonbildung verlangt aber oft sehr energische Reaktionsbedingungen, meist tagelanges Erhitzen in siedendem Toluol. Es war deshalb ein bedeutender Fortschritt, als Gerlach⁶⁸⁾ zeigte, daß die Silberionenaktivierung von Thioleestern, die von Schwyzer⁶⁹⁾ bei der Untersuchung von Coenzym-A-Modellreaktionen gefunden worden war, auch auf die Lactonbildung aus ω -Hydroxycarbonsäure-mercaptopyridinestern anwenden läßt. Bei Silberionen-Katalyse gelingt die Lactonbildung in wenigen Minuten bei Raumtemperatur. Bei den Makrolactonringschlüssen ist häufig keine starke Verdünnung erforderlich. Anscheinend liegen die ω -Hydroxycarbonsäuren, die den Makrolidantibiotika zugrunde liegen, schon vielfach in einer zum Ringschluß günstigen Konformation vor.

3.1. Modellverbindungen

Anhand von Modellverbindungen soll nun die Eignung der Schutzgruppen für die geplante Synthese überprüft werden. Ausgehend vom Natriumsalz der Desoxycholsäure 18 soll zunächst der Benzylester 19 dargestellt werden, der dann weiter mit Oxalylchlorid zum 3a-(Chloroxoacetyloxy)-12a-hydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester 20 umgesetzt wird. Durch Reaktion von Verbindung 20 mit Ethanol entsteht der „Diester“ 21 (3a-(Ethoxyoxoacetyloxy)-12a-hydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester). Dann wird hydrogenolytisch der Benzylester gespalten (siehe Schema 2). In dieser Reaktionsfolge kann einmal die Stabilität des Benzylesters bei der Umsetzung mit Oxalylchlorid, sowie die Stabilität der neugeknüpften Esterbindung bei hydrogenolytischer Spaltung des Benzylesters getestet werden.

1819202122

3.1.1. Darstellung von 3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester 19

Natriumdesoxycholat 18 wird in wasserfreiem DMSO mit Benzylchlorid im Überschuß fünf Stunden erhitzt. Nach Aufarbeitung und anschließender Chromatographie wird der Benzylester 19 in 85 %iger Ausbeute isoliert.

Die funktionellen Gruppen der neuen Verbindung erzeugen folgende Banden im IR-Spektrum: Im Carbonylbereich, bei $\nu = 1735 \text{ cm}^{-1}$, erscheint eine Esterbande. Die CH-Valenzschwingungen ergeben Banden bei $\nu = 2858 \text{ cm}^{-1}$ und 2923 cm^{-1} . Zwischen $\nu = 3580 \text{ cm}^{-1}$ und 3100 cm^{-1} befinden sich die Banden für die OH-Valenzschwingungen.

Für die angulären Methylgruppen zeigt das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei $\delta = 0,65 \text{ ppm}$ (C-18) und bei $\delta = 0,91 \text{ ppm}$ (C-19) jeweils ein Singulett. Das Dublett bei $\delta = 0,96 \text{ ppm}$ kann der Methylgruppe in der Seitenkette zugeordnet werden. Die zwei Protonen an C-23 geben ein Multiplett bei $\delta = 2,36 \text{ ppm}$. Multipletts bei $\delta = 3,60 \text{ ppm}$ (C-3) und $\delta = 3,91 \text{ ppm}$ (C-12) kennzeichnen die chemische Verschiebung der geminal zu den OH-Gruppen stehenden Protonen. Als Singulett bei $\delta = 5,12 \text{ ppm}$ erscheinen die Methylenprotonen des Benzylesters. Die fünf aromatischen Protonen des Benzylringes ergeben ein Singulett bei $\delta = 7,38 \text{ ppm}$.

Im Massenspektrum erscheint der Pik höchster Masse bei 482 m/e. Er entspricht dem Molpik. Dann wird zweimal Wasser abgespalten. Im Anschluß daran erfolgt die Abspaltung von Benzylalkohol.

3.1.2. Darstellung von 3 α -(Chloroxoacetyloxy)-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester 20

Desoxycholsäurebenzylester 19 wird in Oxalylchlorid im Überschuß gelöst und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das überschüssige Oxalylchlorid wird dann im Vakuum entfernt. Das erhaltene Öl wird nicht weiter charakterisiert,

sondern gleich weiterverarbeitet.

3.1.3. Darstellung von 3a-(Ethoxyoxoacetyloxy)-12a-hydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester 21

Die frisch hergestellte Verbindung 20 wird in wasserfreiem Benzol gelöst und mit wasserfreiem Ethanol im Überschuß umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Chromatographie fiel das neue Produkt in 84 %iger Ausbeute an.

Das IR-Spektrum der neuen Verbindung zeigt drei Arten von Banden. Bei $\nu = 3600 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ eine Bande für die OH-Valenzschwingung, bei $\nu = 2930 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2857 \text{ cm}^{-1}$ Banden für die CH-Valenzschwingungen sowie im Carbonylbereich bei $\nu = 1750 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 1730 \text{ cm}^{-1}$ zwei charakteristische Banden für Oxalsäureester.

Im ^1H -NMR-Spektrum findet man für Verbindung 21 bei $\delta = 0,66 \text{ ppm}$ (C-18) und $\delta = 0,73 \text{ ppm}$ (C-19) zwei Singulets für die angulären Methylgruppen. Die Protonen der Methylgruppe in der Seitenkette (C-21) ergeben ein Dublett bei $\delta = 0,93 \text{ ppm}$. Das Triplet bei $\delta = 1,39 \text{ ppm}$ steht für die drei Protonen der Estermethylgruppe. Bei $\delta = 2,35 \text{ ppm}$ befindet sich ein Multiplet, das zwei Protonen entspricht. Es kann der 23-CH₂-Gruppe zugeordnet werden. Die beiden β -ständigen Protonen an C-3 und C-12 ergeben jeweils ein Multiplet bei $\delta = 3,59 \text{ ppm}$ und $\delta = 3,96 \text{ ppm}$. Das erwartete Quartett für die Estermethylengruppe erscheint bei $\delta = 4,31 \text{ ppm}$, die Methylengruppe des Benzylesters dagegen bei $\delta = 5,10 \text{ ppm}$ als Singulett. Im Aromatenbereich findet man dann noch das Singulett für die fünf Protonen des Phenylringes.

3.1.4. Darstellung von 3a-(Ethoxyoxoacetyloxy)-12a-hydroxy-5 β -cholan-24-säure 22

Zur hydrogenolytischen Benzylesterspaltung wird Verbindung 21 in wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit Palladium-Aktivkohle (10% Palladium) als Katalysator bei

einem Wasserstoffdruck von einem bar bei 50 °C drei Stunden hydriert⁷⁰⁾. Nach Aufarbeitung und Chromatographie wird das neue Produkt in 84 %iger Ausbeute erhalten. Das ¹H-NMR-Spektrum der neuen Verbindung 22 zeigt folgende Signale: Die angulären Methylgruppen erscheinen als Singulett bei $\delta = 0,66$ ppm (C-18) und $\delta = 0,73$ ppm (C-19) und die Methylgruppe der Seitenkette als Dublett bei $\delta = 0,93$ ppm. Das Triplett bei $\delta = 1,39$ ppm entspricht drei Protonen und stammt von der Estermethylgruppe. Die Methylen-Gruppe dieses Esters ergibt das Quartett bei $\delta = 4,31$ ppm. Weiterhin enthält das Spektrum noch drei Multipletts, wovon das eine bei $\delta = 2,35$ ppm zwei Protonen entspricht und von den Protonen an C-23 stammt. Die restlichen beiden Multipletts entsprechen jeweils einem Proton und stammen von den β -ständigen Protonen an C-3 (bei $\delta = 3,59$ ppm) und an C-12 (bei $\delta = 3,96$ ppm). Im Aromatenbereich treten keine Signale mehr auf. Der Benzylester ist also hydrogenolytisch gespalten worden, ohne die Oxalsäureesterbindung in Mitleidenschaft zu ziehen.

3.1.5. Darstellung von 3 α ,12 α -Bis [(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-säure 23

Desoxycholsäure 2 wird in wasserfreiem Tetrahydrofuran, mit p-Toluolsulfonsäuremonohydrat als Katalysator, mit 2,3-Dihydro-4H-pyran im Überschuß umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Chromatographie fällt der Tetrahydropyranylether als farbloses, zähes Öl in 88 %iger Ausbeute an. Verbindung 23 zeigt im IR-Spektrum zwischen $\nu = 3600$ cm⁻¹ und $\nu = 3100$ cm⁻¹ Banden für die OH-Valenzschwingungen und bei $\nu = 2930$ cm⁻¹ und $\nu = 2860$ cm⁻¹ Banden für die CH-Valenzschwingungen. Für die Säurecarbonylschwingung tritt eine Bande bei $\nu = 1700$ cm⁻¹ auf.

Im ¹H-NMR-Spektrum findet man für die Protonen der angulären Methylgruppen Singulett bei $\delta = 0,60$ ppm (C-18) und $\delta = 0,83$ ppm (C-19). Die Protonen der Methylgruppe in

der Seitenkette ergeben ein Dublett bei $\delta = 0,92$ ppm. Bei $\delta = 3,73$ ppm erscheint ein Multiplett, das fünf Protonen entspricht. Vier davon sitzen an den Pyranringen (Pos.6), eins an C-3 des Steroids. Ein weiteres Multiplett, bei $\delta = 4,73$ ppm, das einem Proton entspricht, wird dem Proton an C-12 zugeordnet. Das Multiplett bei $\delta = 5,73$ ppm wird von den zwei Protonen der Pyranringe an Position 2 verursacht.

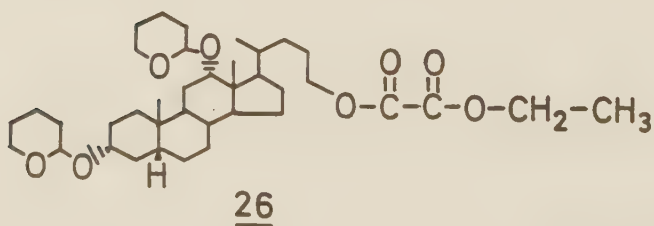
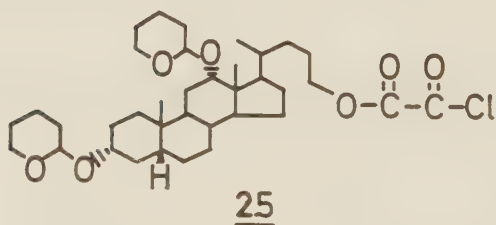
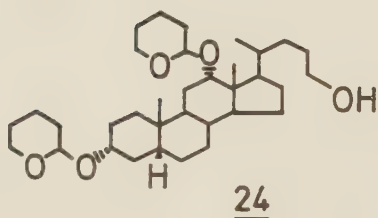
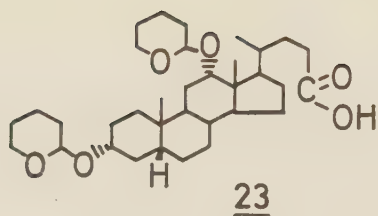
Das Massenspektrum zeigt den Pik höchster Masse bei 560 m/e, er entspricht dem Molpik und erscheint, wie häufig bei Verbindungen dieser Art, nur sehr schwach. Als erste Fragmentierung tritt die Abspaltung eines Pyranylringes $M^+ - 84$ auf. Dann wird der zweite Pyranylring abgespalten ($M^+ - 168 = 392$ m/e). Im Anschluß daran erfolgt zweimalige Wasserabspaltung.

3.1.6. Darstellung von 3a,12a-Bis [(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-ol 24

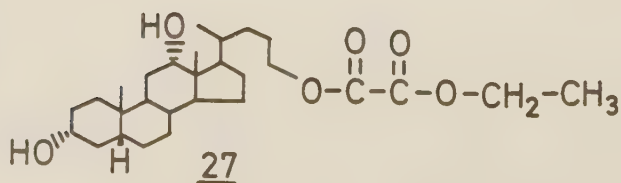
Verbindung 23 wird in wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit Lithiumaluminiumhydrid im Überschuß reduziert. Die Ausbeute beträgt 95%.

Das IR-Spektrum für die neue Verbindung zeigt nur noch bei $\nu = 3600 - 3100$ cm^{-1} eine Bande für die OH-Valenzschwingung und bei $\nu = 2930$ cm^{-1} und $\nu = 2860$ cm^{-1} Banden für die CH-Valenzschwingungen. Im Carbonylbereich sind keine Banden mehr zu finden. Die Reduktion ist erfolgreich verlaufen.

Im ^1H -NMR-Spektrum für Verbindung 24 ergeben die Protonen der angulären Methylgruppen Singulets bei $\delta = 0,61$ ppm (C-18) und $\delta = 0,84$ ppm (C-19). Die Protonen der Methylgruppe in der Seitenkette ergeben ein Dublett bei $\delta = 0,92$ ppm. Das Multiplett bei $\delta = 2,38$ ppm kann den zwei Protonen an C-24 zugeordnet werden. Ein weiteres Multiplett bei $\delta = 3,78$ ppm stammt von den Protonen an Position 6 des Pyranringes sowie vom Proton an C-3. Bei $\delta = 4,73$ ppm erscheint ein Multiplett, das einem Proton entspricht.



Schema 2



Es stammt vom Proton an C-12. Das Multiplett bei $\delta = 5,73$ ppm wird von den Protonen an Position 2 des Pyranringes verursacht.

Der Pik höchster Masse bei 546 m/e entspricht dem Molpik und erscheint nur sehr schwach. Die Fragmentierung erfolgt nach dem gleichen Muster wie bei Verbindung 23. Zunächst werden nacheinander zwei Pyranylringe abgespalten, was zu den Massenzahlen $M^+ - 84 = 462$ m/e und $M^+ - 168 = 378$ m/e führt. Im Anschluß daran wird zweimal Wasser abgespalten. Die weitere Fragmentierung verläuft in der bei diesen Steroiden üblichen Weise.

3.1.7. Darstellung von Chloroxoessigsäure-[3 α ,12 α -bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-yl]-ester 25

Verbindung 24 wird in wasserfreiem Toluol gelöst und mit Oxalylchlorid im Überschuß bei Raumtemperatur umgesetzt. Dann wird das Lösungsmittel und das überschüssige Oxalylchlorid im Vakuum entfernt. Verbindung 25 wird gleich weiter verarbeitet, die Ausbeute nicht bestimmt.

3.1.8. Darstellung von Oxalsäure-3 α ,12 α -bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-yl]-ethyl-ester 26

Die wie oben beschrieben dargestellte Verbindung 25 wird dann mit wasserfreiem Ethanol umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Chromatographie wird ein gelbliches, zähes Öl in 80 %iger Ausbeute isoliert.

Das IR-Spektrum von Verbindung 26 enthält bei $\nu = 2930$ cm⁻¹ und $\nu = 2860$ cm⁻¹ Banden für die CH-Valenzschwingungen. Im Carbonylbereich, bei $\nu = 1748$ cm⁻¹ und $\nu = 1720$ cm⁻¹, treten wieder die typischen Banden für Oxalsäureester auf. Im ¹H-NMR-Spektrum von Verbindung 26 treten zwei neue Signale auf. Bei $\delta = 1,33$ ppm erscheint ein Triplett für die Estermethylgruppe und bei $\delta = 4,32$ ppm erscheint ein

Quartett für die Methylenprotonen des Esters.

3.1.9. Darstellung von Oxalsäure-(3a,12a-dihydroxy-5β-cholan-24-yl)-ethyl-ester 27

Zur Abspaltung der Schutzgruppen⁶²⁾ wird Verbindung 26 in ethanolischer Salzsäure (pH = 3) gelöst und dann gelinde erwärmt. Nach Beendigung der Reaktion und Aufarbeitung des Reaktionsgemisches erhält man ein gelbliches Öl. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung zeigt kein Edukt mehr, jedoch auch kein einheitliches neues Produkt, sondern eine Reihe von neuen Produkten. Nach präp. Schichtchromatographie fällt Verbindung 27 in relativ geringer Ausbeute von nur 36,5% an. Bei der Abspaltung der Schutzgruppen ist auch ein Teil des Oxalsäureesters mit verseift worden.

Das IR-Spektrum von Verbindung 27 zeigt, wie erwartet, zwischen $\nu = 3600$ und 3100 cm^{-1} eine breite Bande für die OH-Valenzschwingung. Die CH-Valenzschwingungen erzeugen Banden bei $\nu = 2940 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2860 \text{ cm}^{-1}$. Im Carbonylbereich treten bei $\nu = 1748 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 1720 \text{ cm}^{-1}$ die charakteristischen Banden für Oxalsäureester auf.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt außer den für das Steroid typischen Signalen nur noch ein Triplett bei $\delta = 1,32 \text{ ppm}$, von der Estermethylgruppe und ein Quartett bei $\delta = 4,32 \text{ ppm}$ von den Methylenprotonen des Esters.

3.1.10. Darstellung von Oxalsäure-[3a,12a-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5β-cholan-24-yl]-[12a-hydroxy-24-oxo-24-(phenylmethoxy)-5β-cholan-3a-yl]-ester 28

Ausgehend vom Desoxycholsäurebenzylester 19 wird durch Umsetzung mit Oxalylchlorid der 3a-(Chloroxoacetyloxy)-12a-hydroxy-5β-cholan-24-säure-benzylester 20 hergestellt und in wasserfreiem Benzol mit 3a,12a-Bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5β-cholan-24-ol 24 umgesetzt. Nach üblicher Aufarbeitung und Chromatographie fällt das neue Produkt

als farbloses Öl in 25 %iger Ausbeute an.

Die neue Verbindung 28 zeigt im IR-Spektrum zwischen $\nu = 3600$ und 3100 cm^{-1} eine breite Bande für die OH-Valenzschwingung. Bei $\nu = 2940\text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2860\text{ cm}^{-1}$ erscheinen Banden für die CH-Valenzschwingungen. Im Carbonylbereich erscheinen bei $\nu = 1760\text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 1720\text{ cm}^{-1}$ die beiden Banden für den Oxalsäureester.

Das ^1H -NMR-Spektrum zeigt zusätzlich zu den bekannten Steroidsignalen bei $\delta = 5,06$ ppm ein Singulett, das zwei Protonen entspricht, und bei $\delta = 7,32$ ppm, im Bereich aromatischer Protonen, ein Singulett, das fünf Protonen entspricht. Beide Signale können dem Benzylester zugeordnet werden. Außerdem treten noch zwei Multipletts bei $\delta = 3,65$ ppm (4 Protonen) und bei $\delta = 5,20$ ppm (2 Protonen) auf. Sie werden durch die Protonen in Pos.6 und die Protonen in Pos.2 am Pyranring erzeugt.

Im Massenspektrum von Verbindung 28 tritt der Molpik nicht auf. Der Pik höchster Masse liegt bei 878 m/e , was einem $\text{M}^+ - 204$ entspricht. Es sind also die zwei Pyranringe und zweimal Wasser abgespalten worden. Dann wird noch ein Molekül Wasser abgespalten, was zu $\text{M}^+ - 222 = 860\text{ m/e}$ führt. Die nächste Fragmentierung führt dann zu 787 m/e ($\text{M}^+ - 295$). Sie charakterisiert die Abspaltung von Benzylalkohol.

Die oben beschriebenen Versuche haben gezeigt, daß, mit Hilfe der eingeführten Schutzgruppen, die Synthese einer Komponente aus zwei Molekülen Desoxycholsäure 2 möglich ist, allerdings nur in einer relativ geringen Ausbeute (25%). Eine so geringe Ausbeute bei der Darstellung der Ausgangsverbindung zu einem Makrocyclus erschien nicht tragbar, da der nächste Schritt der Tetramerensynthese, die Abspaltung des Tetrahydropyranylethers, wie Versuche an Modellverbindungen gezeigt haben, noch kritischer ist. Daher erschien es nicht ratsam, auf diesem Wege fortzufahren.

4. Wittig-Reaktionen

Eine weitere Möglichkeit der Verknüpfung zweier Gallensäuremoleküle besteht in der Bildung neuer C-C-Bindungen. Durch Oxidation des sekundären Alkohols an C-3 kann an dieser Stelle ein Keton erzeugt werden. Die Reaktion dieser Carbonylverbindungen mit Bisalkylentriphenylphosphoranen liefert neue Dimere. Dieser Reaktionstyp ist allgemein als Wittig-Reaktion oder Wittig-Olefinierung⁷¹⁾ bekannt.

Bereits 1957 wurde die Wittig-Reaktion von F. Sondheimer und R. Mechoulam^{72,73)} zur Synthese einer Reihe von Methylensteroiden angewendet. Es gelang ihnen die Einführung eines Methylenrestes an C-3, C-7 und C-17 des Steroids. Bergmann^{74,75)} setzte verschiedene Steroide, die Ketogruppen in der Seitenkette enthielten, mit Methylentriphenylphosphoran um und erhielt Steroide mit Methylengruppen in der Seitenkette. Drefahl⁷⁶⁾ und Mitarbeitern gelang es, die Wittig-Reaktion zur Synthese höherer Alkylidensteroide anzuwenden.

Alle oben zitierten Synthesen sind an Steroiden durchgeführt worden, deren Ringe all-trans-verknüpft sind. In dieser Arbeit soll nun untersucht werden, ob 3-Ketone von A/B-cis-verknüpften Steroiden, ähnlich wie die trans-verknüpften Steroide, Wittig-Reaktionen eingehen und ob es möglich ist, durch Umsetzung von A/B-cis-verknüpften 3-Ketosteroiden mit Bisalkylentriphenylphosphoranen, Steroiddimere zu erhalten.

4.1. Darstellung der Wittig-Salze

Für Umsetzungen des Typs



stehen grundsätzlich drei Wege zur Verfügung:

Flüssige Halogenverbindungen können ohne Verwendung eines Lösungsmittels direkt mit Triphenylphosphin reagieren^{77,78)},

festen Halogenverbindungen lassen sich in der Schmelze umsetzen⁷⁹⁾. Schließlich wurden mit unterschiedlichem Erfolg Lösungsmittel eingesetzt^{79,80)}.

4.1.1. Darstellung von Ethyltriphenylphosphoniumbromid 29

Äquimolare Mengen von Ethylbromid und Triphenylphosphin werden in trockenem Chloroform zur Reaktion gebracht. Die neue Verbindung 29 wird dann mit Diethylether ausgefällt. Das IR-Spektrum zeigt bei $\nu = 3042 \text{ cm}^{-1}$ eine Bande für aromatische Protonen. Bei $\nu = 2910 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2875 \text{ cm}^{-1}$ finden sich die Banden für die CH-Valenzschwingungen. Außerdem treten noch zwei charakteristische Banden für P-C-Schwingungen auf. Die Bande für die Phosphor-Aromatenschwingung liegt bei $\nu = 1112 \text{ cm}^{-1}$ und die Bande für die Phosphor-Aliphatenschwingung bei $\nu = 718 \text{ cm}^{-1}$.

Das ^1H -NMR-Spektrum zeigt drei Signalgruppen. Bei $\delta = 7,78$ ppm ein Multiplett für die Phenylprotonen, ein Doppel-dublett bei $\delta = 3,82$ ppm für die Methylenprotonen und bei $\delta = 1,40$ ppm ein Doppeltriplett für die Methylprotonen.

4.1.2. Darstellung von 1,5-Pentandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 30

Für die Darstellung von Bis-Wittig-Salzen ist die Wahl eines stark polaren Lösungsmittels angezeigt⁸¹⁾, weil es in ihnen gelingt, auch das zweite Äquivalent Triphenylphosphin zur Reaktion zu bringen. Das bifunktionelle Phosphoniumsalz fällt spontan aus oder wird mit Diethylether ausgefällt. Auf diese Weise lassen sich bifunktionelle Salze unter Vermeidung des Arbeitens in der Schmelze und in guten Ausbeuten gewinnen.

Ein Teil 1,5-Dibrompentan und zwei Teile Triphenylphosphin werden in Dimethylformamid miteinander umgesetzt. Beim Abkühlen fällt das Wittig-Salz aus.

Für Wittig-Salze tauchen drei charakteristische Banden im IR-Spektrum auf. Bei $\nu = 3047 \text{ cm}^{-1}$ findet man eine Bande

für aromatische CH-Schwingungen. Zwei Banden, die die Schwingungen der Phosphor-Kohlenstoffbindungen charakterisieren, zeigen sich bei $\nu = 1111 \text{ cm}^{-1}$ (P-C - aromatisch) und bei $\nu = 721 \text{ cm}^{-1}$ (P-C - aliphatisch).

Das ^1H -NMR-Spektrum besteht aus drei Signalgruppen. Dem Integral nach gibt das Multiplett bei $\delta = 1,64 \text{ ppm}$ die chemische Verschiebung von sechs Protonen an. Die vier Protonen, die an den dem Phosphor benachbarten C-Atomen sitzen, erscheinen als Multiplett bei $\delta = 3,48 \text{ ppm}$. Das Multiplett bei $\delta = 7,81 \text{ ppm}$ steht für die dreißig Protonen der Phenylringe.

4.1.3. Darstellung von 1,6-Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 31

Ein Teil 1,6-Dibromhexan und zwei Teile Triphenylphosphin werden in siedendem DMF miteinander umgesetzt. Nach dem Abkühlen fällt die neue Substanz aus.

Für dieses Wittig-Salz ergeben die CH-Valenzschwingungen am Aromaten die Bande bei $\nu = 3045 \text{ cm}^{-1}$. Die Schwingungen der Phosphor-Kohlenstoff-Bindungen zeigen zwei Banden bei $\nu = 1111 \text{ cm}^{-1}$ (P-C - aromatisch) und bei $\nu = 721 \text{ cm}^{-1}$ (P-C - aliphatisch).

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung besteht aus vier Signalgruppen. Sie erscheinen jeweils als Multiplett und werden folgendermaßen zugeordnet. Der chemischen Verschiebung von $\delta = 7,82 \text{ ppm}$ entsprechen die dreißig Protonen der Phenylringe. Die restlichen Protonen teilen sich im Verhältnis 4 : 4 : 4 auf. Das Multiplett bei $\delta = 3,50 \text{ ppm}$ stammt von den Protonen, die an den dem Phosphor benachbarten Kohlenstoffatomen sitzen. Die beiden restlichen Multipletts, sie entsprechen ebenfalls wieder vier Protonen, bei $\delta = 1,9 \text{ ppm}$ und $\delta = 1,74 \text{ ppm}$ werden von den Protonen erzeugt, die ein Kohlenstoffatom weiter vom Phosphor entfernt sitzen.

4.2. Oxidation von Steroidalkoholen mit Dipyridin-Chrom(VI)oxid

Die Oxidation von Hydroxylgruppen zu Ketonen oder Aldehyden wurde lange Zeit mit Chromsäure durchgeführt. Auch die Salze der Chromsäure fanden Verwendung, aber nur im sauren Medium⁸²⁾. Enthält das Molekül jedoch auch noch säureempfindliche Gruppen, Thioether, Doppelbindungen, so muß ein anderes Oxidationsmittel gewählt werden. Poos und Mitarbeiter⁸³⁾ untersuchten die Komplexe von Chrom(VI)oxid und stabilen tertiären Aminen auf ihre Eignung als milde Oxidationsmittel. Sie fanden, daß die von Sisler und Mitarbeitern⁸⁴⁾ beschriebenen Komplexe, unter ihnen der Pyridin-Komplex, in der Lage waren, aus Hydroxylgruppen einen Chromatester zu bilden, der sich dann in den entsprechenden Aldehyd oder das entsprechende Keton zersetzt⁸⁵⁾. Die Ausbeuten waren gut und der Pyridin-Komplex zeigte die erhoffte Inertheit gegenüber Doppelbindungen und Thioethern.

4.2.1. Darstellung von Dipyridin-Chrom(VI)oxid 32

Nach einer Vorschrift von Collins⁸⁶⁾ wird Chrom(VI)oxid mit trockenem Pyridin umgesetzt. Das Chrom(VI)oxid wird portionsweise vorsichtig in das im Überschuß vorgelegte Pyridin eingetragen, da sonst die Gefahr besteht, daß das Reaktionsgemisch sich entzündet. Der Dipyridin-Chrom(VI)-oxid-Komplex fällt als gelb-orangener Feststoff in guter Ausbeute (82% d.Th.) an.

4.2.2. Darstellung von Cholest-5-en-3-on 34

Nach einer Vorschrift von Collins⁸⁶⁾ wird Cholesterin 33 mit Dipyridin-Chrom(VI)oxid 32 in trockenem Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Chromatographie konnten zwei Produkte isoliert und untersucht werden. Von beiden Produkten wurden IR-Spektren angefertigt.

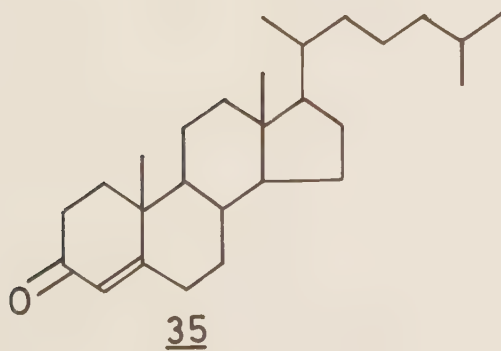
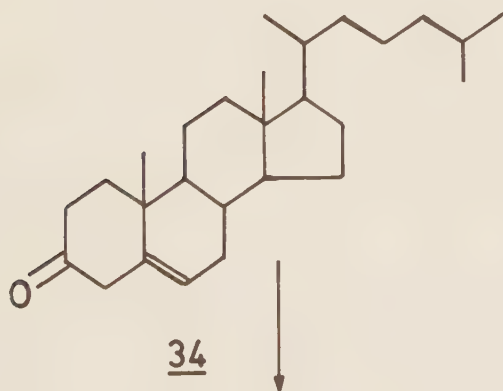
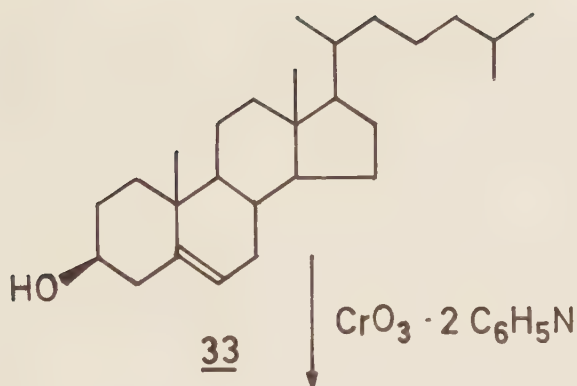
Das IR-Spektrum von Produkt 1 (Ausbeute 53,5%) zeigt neben den Banden für die CH-Valenzschwingungen bei $\nu = 2940 \text{ cm}^{-1}$ und $\nu = 2870 \text{ cm}^{-1}$ im Carbonylbereich noch eine Bande bei $\nu = 1687 \text{ cm}^{-1}$, die einem α,β -ungesättigten Keton entspricht. Außerdem findet sich bei $\nu = 1625 \text{ cm}^{-1}$ noch eine Bande, die auf C=C-Doppelbindungen hinweist.

Das Produkt 2 (Ausbeute 6%) zeigt im IR-Spektrum bei $\nu = 2940 \text{ cm}^{-1}$ und bei $\nu = 2870 \text{ cm}^{-1}$ Banden für die CH-Valenzschwingungen. Im Carbonylbereich findet sich eine Bande bei $\nu = 1722 \text{ cm}^{-1}$. Sie entspricht einem gesättigten Keton.

Bei der Oxidation von Cholesterin 33 mit dem $\text{CrO}_3 \cdot 2 \text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ -Komplex ist, wie die IR-Spektren beweisen, zunächst das Cholest-5-en-3-on 34 entstanden, das dann bei der Chromatographie an Kieselgel zum Cholest-4-en-3-on 35 isomerisiert ist (siehe Schema 3).

Im ^1H -NMR-Spektrum ergeben die Protonen der angulären Methylgruppen Singulets bei $\delta = 0,72 \text{ ppm}$ (C-18) und

$\delta = 1,19 \text{ ppm}$ (C-19). Die Protonen der beiden Methylgruppen (C-26(27)) ergeben ein Dublett bei $\delta = 0,86 \text{ ppm}$ und das Dublett bei $\delta = 0,92 \text{ ppm}$ kann den drei Protonen an C-21 zugeordnet werden. Das Methinproton an C-4 erscheint bei $\delta = 5,75 \text{ ppm}$. Die gefundenen Werte für die chemischen Verschiebungen stimmen gut mit der Literatur³³⁾ überein.



Das Massenspektrum von Cholest-4-en-3-on 35 zeigt einmal die für die Steroid- Δ^4 -3-Ketone charakteristischen Bruchstücke⁸⁷⁾ (m/e 124, $M - 42$, $M - 85$, $M - 123$), zum anderen die für C-17-substituierte Steroide typischen D-Ringfragmente³³⁾ (siehe Abbildung 17).

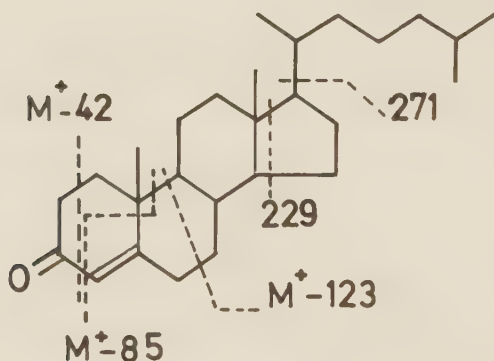


Abb.19

4.2.3. Darstellung von 3-Ethylidencholest-4-en 36

In Anlehnung an eine Literaturvorschrift⁷⁶⁾ wird aus Ethyltriphenylphosphoniumbromid 29 und Kalium-tert.-butylat als Base in trockenem DMSO unter Argonatmosphäre das Ylid hergestellt und mit Cholest-4-en-3-on 35 in einer Wittig-Reaktion umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Chromatographie werden zwei Substanzen isoliert. Hiervon werden IR-Spektren aufgenommen.

Substanz 1 ($R_F = 0,35$) hat folgende charakteristische Banden: Im Carbonylbereich findet sich eine Bande bei $\nu = 1687 \text{ cm}^{-1}$. Sie wird α, β -ungesättigten Ketonen zugeordnet. Außerdem findet sich noch eine Bande für C=C-Doppelbindungen bei $\nu = 1625 \text{ cm}^{-1}$. Bei Substanz 1 handelt es sich also um nicht umgesetztes Keton 35.

Substanz 2 ($R_F = 0,54$) zeigt ein ganz anderes IR-Spektrum. Bei $\nu = 3030 \text{ cm}^{-1}$ erscheint die CH-Valenzschwingung für H-Atome an einer Doppelbindung, bei $\nu = 2940 \text{ cm}^{-1}$ die CH-Valenzschwingung und bei $\nu = 965 \text{ cm}^{-1}$ findet sich die CH-„out of plane“-Deformationsschwingung an einer Doppelbindung.

Das Massenspektrum von Substanz 2 zeigt den Molpik bei 397/399 m/e. Als nächstes Ion tritt $M^+ - 28$, die Abspaltung der Ethylidengruppe, auf.

4.2.4. Darstellung von 3,3'-(Hexandiyliden)bis[4-cholesten] 37

In einer Wittig-Reaktion werden 1,6-Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 31, aus dem mit Kalium-tert.-butylat das Ylid erzeugt wird, mit Cholest-4-en-3-on 35 umgesetzt, um ein durch C-C-Bindungen verknüpfted Dimeres zu erhalten. Nach Aufarbeitung und Chromatographie wird nicht umgesetztes Cholest-4-en-3-on 35 und ein neues Produkt isoliert.

Bei $\nu = 3045 \text{ cm}^{-1}$ findet man für die isolierte Substanz im IR-Spektrum eine Bande für aromatische CH-Valenzschwingungen. Die CH-Valenzschwingungen ergeben Banden bei $\nu = 2930 \text{ cm}^{-1}$ und 2860 cm^{-1} . Außerdem zeigt das Spektrum noch Banden für eine Phosphor-Sauerstoff-Doppelbindung bei $\nu = 1185 \text{ cm}^{-1}$, sowie für eine Phosphor-Aryl-Bindung bei $\nu = 1120 \text{ cm}^{-1}$ und für eine Phosphor-Alkyl-Bindung bei $\nu = 718 \text{ cm}^{-1}$.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erscheinen bei $\delta = 1,43 \text{ ppm}$, $\delta = 1,61 \text{ ppm}$ und $\delta = 2,20 \text{ ppm}$ drei Multipletts, die jeweils vier Protonen entsprechen. Außerdem enthält das Spektrum noch Signale im Aromatenbereich. Bei $\delta = 7,49 \text{ ppm}$ befindet sich ein Multiplett, das 12 Protonen entspricht und ein Multiplett bei $\delta = 7,74 \text{ ppm}$, das 8 Protonen entspricht.

Die beiden Spektren, $^1\text{H-NMR}$ und IR, beweisen, daß bei der oben durchgeführten Reaktion nicht das gewünschte Produkt, das 3,3'-(1,6-Hexandiyliden)bis[4-cholesten] 37, entstan-

den ist. Es muß eine Nebenreaktion zum 1,6-Hexandiyl-bis-diphenylphosphinoxid 38 abgelaufen sein.

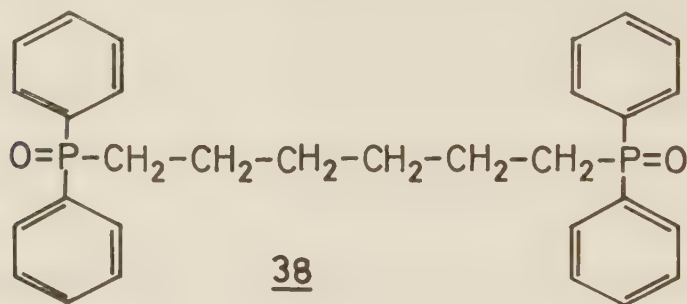


Abb. 20

Die spektroskopischen Daten sprechen für diese Verbindung. Auch das erhaltene Massenspektrum. Der Molpik erscheint bei 486 m/e. Als charakteristische Fragmentierungen treten die Abspaltung eines Phenylringes $M^+ - 77 = 409$ m/e, sowie die Abspaltung einer $PO(Ph)_2$ -Einheit bei $M^+ - 201 = 285$ m/e auf. Bei letzterem handelt es sich gleichzeitig um den Basispek.

Solche basenkatalysierten Nebenreaktionen sind bekannt. Nuck⁸⁸⁾ beschreibt bei der Reaktion von p-Methoxybenzyl-triphenylphosphoniumchlorid mit Natrium-tert.-butanolat in wasserfreiem Dioxan die Bildung von Diphenyl-p-methoxybenzylphosphinoxid (siehe Abb. 21).

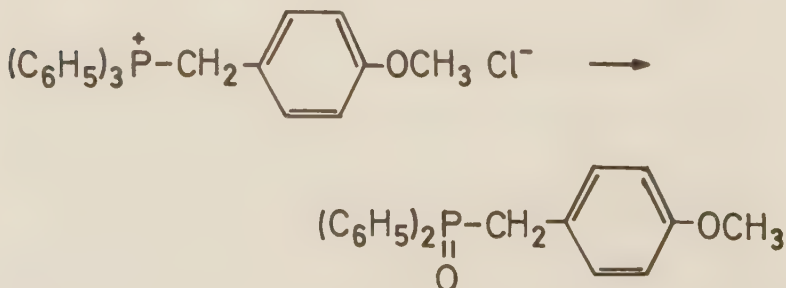


Abb. 21

Solche Phosphinoxide wurden auch durch Hydrolyse reaktiver Phosphorylide von Wittig⁸⁹⁾ (R = H) sowie Coffmann und Marvel⁹⁰⁾ unter Bildung von Benzol erhalten (siehe Abb.22).

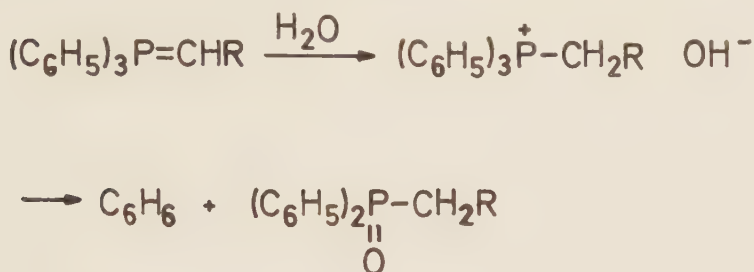
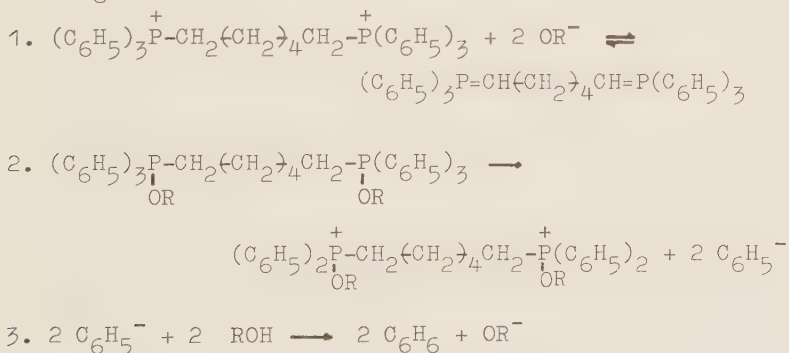
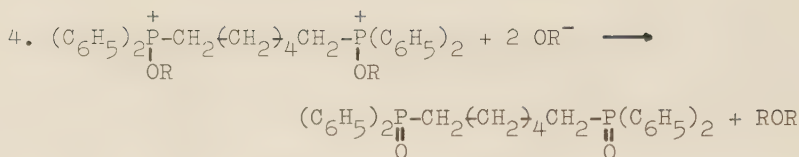


Abb.22

Die Hydrolyse des eingesetzten Wittig-Salzes erscheint jedoch unter den gewählten Versuchsbedingungen als unbefriedigende Erklärung, da im vorliegenden Versuch unter wasserfreien Versuchsbedingungen gearbeitet wurde.

Vielmehr sollte ein im Schema 5 aufgezeigter, durch die tert.-Butanolationen katalysierter Zerfall des Wittig-Salzes möglich sein.





Schema 5

Zur Sicherung des komplexen Reaktionsschemas müßte jedoch in eingehenden Untersuchungen die Bildung von Benzol (in 3.) sowie von Di-tert.butylether (in 4.) nachgewiesen werden.

Zur Unterdrückung basenkatalysierter Nebenreaktionen der Wittig-Salze wurde, abweichend von der Methode der vorgezogenen Ylidbildung mit Kalium-tert.-butylat, die Base erst später der Mischung aus Wittig-Salz und Carbonylkomponente zugesetzt⁸⁸⁾.

Bei der oben beschriebenen Reaktion führte auch diese Variante nicht zum erwünschten Ziel.

4.2.5. Darstellung von 3-Oxo-5 β -cholan-24-säure 39

Lithocholsäure 3 wird nach Collins⁸⁶⁾ mit Dipyridin-Chrom-(VI)-oxid 32 zu 3-Oxo-5 β -cholan-24-säure 39 oxidiert. Das IR-Spektrum der neuen Verbindung zeigt gegenüber dem IR-Spektrum der Lithocholsäure 3 nur eine charakteristische Veränderung. Im Carbonylbereich taucht eine zusätzliche Bande bei $\nu = 1715 \text{ cm}^{-1}$ für das Keton auf.

Im ^1H -NMR-Spektrum erscheinen die Protonen der angulären Methylgruppe (C-18) als Singulett bei $\delta = 0,73 \text{ ppm}$. Die Protonen der Methylgruppe in der Seitenkette ergeben ein Dublett bei $\delta = 0,87 \text{ ppm}$. Die chemische Verschiebung der Protonen der zweiten angulären Methylgruppe (C-19) verändert sich um $0,12 \text{ ppm}$ zu tieferem Feld, verglichen mit Lithocholsäure 3, und es erscheint das Singulett bei $\delta = 1,05 \text{ ppm}$. Das Multiplett, das das der 3-OH-Gruppe benachbarte Proton im ^1H -NMR-Spektrum der Lithocholsäure 3 bei $\delta = 3,65 \text{ ppm}$ lieferte, tritt hier nicht mehr auf.

Der Pik höchster Masse, der im Massenspektrum bei 374 m/e auftaucht, entspricht auch dem Molpik. Die Fragmentierung entspricht den Literaturdaten⁸⁵⁾ und ist in Abbildung 21 angedeutet. Der Verlust von Ring A ist ein charakteristischer Vorgang für 3-Ketosteroide. Danach wird die Seitenkette abgespalten und dann Ring D inklusive Seitenkette eliminiert.

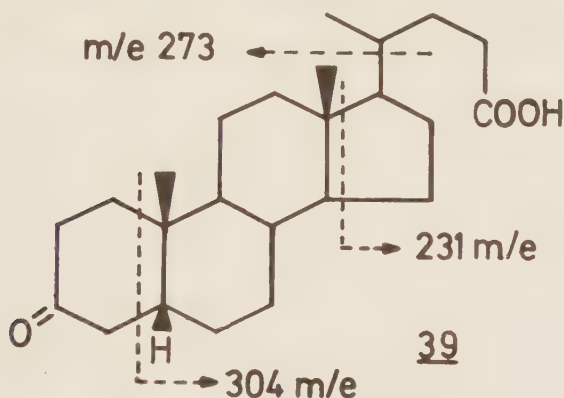


Abb.23

4.2.6. Darstellung von 3-Oxo-5β-cholan-24-säure-methylester 40

Um Verbindung 39 besser löslich zu machen, wurde aus ihr durch Umsetzung mit Diazomethan⁴²⁾ der Methylester 40 hergestellt.

Vergleicht man das erhaltene IR-Spektrum mit dem der Verbindung 39, so ist nur die erwartete Veränderung im Carboxylbereich eingetreten. Statt der Säurecarbonylbande findet sich nun bei $\nu = 1738 \text{ cm}^{-1}$ eine Estercarbonylbande.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erscheinen vier charakteristische Methylgruppensignale. Die Protonen der angulären Methylgruppen ergeben Singulets bei $\delta = 0,69 \text{ ppm}$ (C-18) und bei $\delta = 1,02 \text{ ppm}$ (C-19), die Protonen der Methylgruppe der Seitenkette

(C-21) erscheinen als Dublett bei $\delta = 0,92$ ppm. Bei $\delta = 3,66$ ppm liegt das Singulett für die Estermethylgruppe.

Das Massenspektrum zeigt den Molpik bei $M^+ = 388$ m/e. Nach der Abspaltung von Methanol ($M^+ - 32 = 356$ m/e) erfolgt die weitere Fragmentierung wie bei Verbindung 39 beschrieben.

4.2.7. Darstellung von 3-Ethyliden-5 β -cholan-24-säure-methylester 41

In einer Argonatmosphäre wird Ethyltriphenylphosphoniumbromid 29 in wasserfreiem DMSO gelöst und durch Zugabe von Kalium-tert.-butylat das Ylid hergestellt. Zur braunroten Ylidlösung wird dann langsam Verbindung 40 gegeben. Nach Aufarbeitung ergab die dünnschichtchromatographische Untersuchung, daß keine Umsetzung stattgefunden hatte. Es war nur Edukt nachzuweisen.

4.2.8. Darstellung von 3,3'-(1,6-Hexandiyliden)bis[5 β -cholan-24-säure]dimethylester 42

3-Oxo-5 β -cholan-24-säure-methylester 40 und 1,6-Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 31 werden in wasserfreiem DMSO vorgelegt und dann langsam mit der in DMSO gelösten Base Kalium-tert.-butylat versetzt. Nach Beendigung der Umsetzung und Aufarbeitung konnte auch in diesem Falle nur Verbindung 40 isoliert werden. Es hat keine Wittig-Reaktion stattgefunden.

4.2.9. Wittig-Reaktionen mit Ketonen

Wie allgemein bekannt ist, besitzen Ketone gegenüber vergleichbaren Aldehyden eine beträchtlich eingeschränkte Reaktivität. Der Reaktivitätsverlust kann zum einen durch induktive bzw. mesomere Substituenteneffekte, zum anderen durch sterische Hinderungseffekte von Resten, die der Car-

bonylgruppe benachbart sind, hervorgerufen werden. Bereits Wittig und Schöllkopf⁸⁹⁾ zeigten, daß bei der Reaktion von Benzaldehyd 43a ($R^1 = R^2 = H$) mit Benzyltriphenylphosphoniumchlorid in absolutem Ether mit Phenyllithium als Base Stilben 44a ($R^1 = R^2 = H$) in 82 %iger Ausbeute gebildet wird, dagegen Benzophenon 43b ($R^1 = H$; $R^2 = C_6H_5$) unter diesen Bedingungen keine Reaktion eingeht (siehe Abb.24).

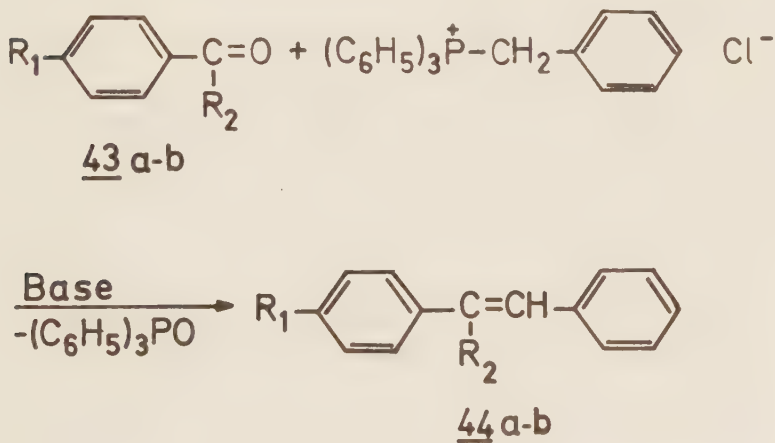


Abb.24

Erst bei Arbeiten im Bombenrohr bei 75 °C konnten Wittig und Haag⁹¹⁾ nach zwei Tagen a-Phenylstilben 44b ($R^1 = H$; $R^2 = C_6H_5$) in 46 %iger Ausbeute erhalten.

Diese Tatsachen mögen vielleicht die geringe Ausbeute bei der Darstellung von 3-Ethylidencholest-4-en 36 erklären, die durch Variation der Reaktionsbedingungen sicher noch zu verbessern ist; sie können jedoch keine Erklärung für das Scheitern der Versuche zur Darstellung von 3-Ethyliden-5 - cholan-24-säure-methylester 41 sein. In der Reaktivität dürften sich diese Verbindungen 36 und 41 nicht sehr unterscheiden. Sterische Gründe, die cis-Verknüpfung der Ringe A und B, dürften im Falle der Verbindung 41 eine Reaktion verhindert haben.

Im Falle der Dimerenbildung, Verbindung 37 und 42, kommt zur geringeren Reaktivität der Ketone und sterischer Hinderung noch ein weiterer Aspekt hinzu. Die Tendenz zur Ylidbildung bei Bis-Wittig-Salzen. Wittig und Mitarbeiter⁷⁸⁾ stellten erhebliche Unterschiede bei der Bisylenbildung fest, die von nur einseitiger bis guter Bisylenbildung reichen.

4.2.10. Wittig-Reaktionen an Polyenen

Die Wittig-Reaktion hat sich als gute Möglichkeit zur Synthese empfindlicher Polyene erwiesen. Da sich auch mehrfach ungesättigte Aldehyde mit befriedigenden Ausbeuten olefinieren lassen, bietet die Wittig-Reaktion willkommene synthetische Möglichkeiten in der Carotin-Chemie. Die Synthese von β -Carotin durch Isler⁹²⁾ und Mitarbeiter ist ein schönes Beispiel für die Anwendung der Wittig-Reaktion auf diesem Gebiet (siehe Abb.23). Die Umsetzung von 8,8'-Dehydro-crocetindialdehyd 45 mit β -Cyclogeranyl-triphenyl-phosphoniumbromid 46 führt zunächst zum 15,15'-Dehydro- β -carotin 47, das bei katalytischer Hydrierung β -Carotin ergibt.

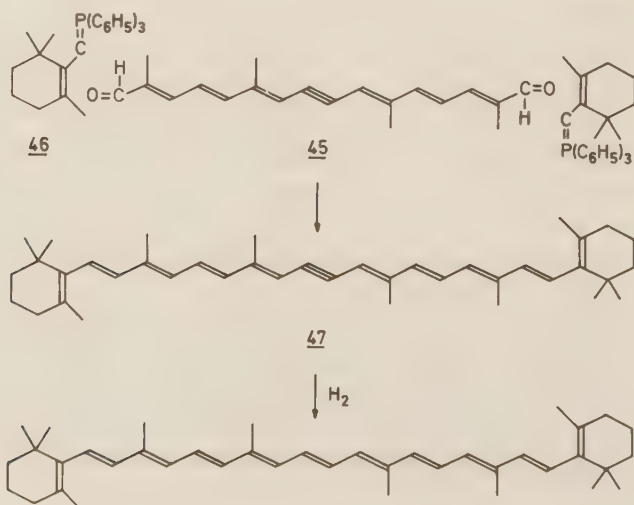


Abb.25

Ebenfalls zum β -Carotin gelangte Pommer⁹³⁾, dessen Synthese dem $C_{15} + C_{10} + C_{15} = C_{40}$ - Aufbauprinzip folgt. Mit der Vitamin-A-Produktion⁹⁴⁾ hat die Wittig-Reaktion sicher ihre bedeutendste industrielle Anwendung gefunden. Die Untersuchungen an Retinolderivaten von Kerkhoff⁹⁵⁾ führten zu der Idee, mit Hilfe der Wittig-Reaktion ein Dimeres aus Retinal zu synthetisieren, bei dem die Konjugation unterbrochen ist.

4.2.10.1. Darstellung von 1,6-Diretinylidenhexan 49
(1,1'-(3,7,18,22-Tetramethyl-1,3,5,7,9,15,
17,19,21,23-tetracosadecaen-1,24-diyl)bis-
[2,6,6-trimethylcyclohexen])

Retinal 48 und 1,6-Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 31 werden in wasserfreiem DMSO und in Argonatmosphäre, nach Zugabe von Kalium-tert.-butylat als Base, in einer Wittig-Reaktion miteinander umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Chromatographie wird ein neues gelbes Produkt isoliert.

Das IR-Spektrum zeigt bei $\nu = 2932 \text{ cm}^{-1}$ und bei $\nu = 2861 \text{ cm}^{-1}$ Banden für die CH-Valenzschwingungen. Bei $\nu = 1630 \text{ cm}^{-1}$ findet man eine Bande für Diene bzw. Triene.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung 49 findet man vier Singulets für die Methylgruppen. Den Protonen der Methylgruppen an C-Atom 6 kann das Singulett bei $\delta = 1,04 \text{ ppm}$ zugeordnet werden, das Singulett bei $\delta = 1,73 \text{ ppm}$ entspricht den Protonen der Methylgruppe an C-Atom 2. Die Protonen der Methylgruppen an den C-Atomen 3/22 und 7/18 ergeben die Singulets bei $\delta = 1,92 \text{ ppm}$ und $\delta = 2,03 \text{ ppm}$. Die Vinylprotonen ergeben Multipletts zwischen $\delta = 5,80$ und $6,70 \text{ ppm}$.

Das Massenspektrum zeigt bei 618 m/e den Pik höchster Masse. Er entspricht auch dem Molpik. Die weitere Fragmentierung verläuft wie in der Literatur⁹⁶⁾ beschrieben und ist in Abb.24 angedeutet. Auf die Spaltung des β -Iononringes ($M^+ - 68$) folgt die Fragmentierung der Polyenkette, was zu den Ionen $M^+ - 148 = 470 \text{ m/e}$ und $M^+ - 214 = 404 \text{ m/e}$ führt.

Letzteres Ion entspricht dem Basispektr.

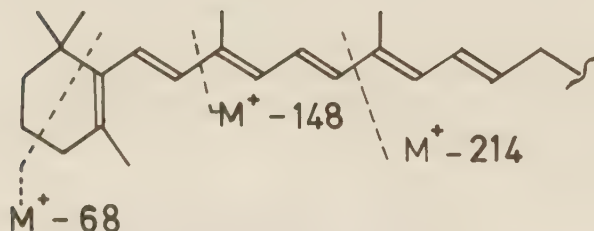


Abb.26

4.2.11. Synthese potentieller Vesikelbildner

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit für die Bis-Wittig-Reaktion besteht bei der Synthese von Vesikelbildnern. Aus Undecylenaldehyd 50 kann durch Umsetzung mit einem Bis-Wittig-Salz eine lange Kohlenwasserstoffkette mit vier Doppelbindungen, davon zwei endständig, dargestellt werden. Aus dieser Verbindung können durch Einführung polarer Kopfgruppen Vesikelbildner dargestellt werden.

4.2.11.1. Darstellung von 1,11,17,27-Octacosatetraen 51

1,6-Hexandiyl(triphenylphosphonium)bromid 31 und Undecylenaldehyd 50 werden in wasserfreiem DMSO in einer Argonatmosphäre mit Kalium-tert.-butylat als Base versetzt und in einer Wittig-Reaktion miteinander umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Chromatographie erhält man ein farbloses Öl in 26 %iger Ausbeute.

Das ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung 51 zeigt fünf Signalgruppen. Die Methylenprotonen ergeben ein Singulett bei $\delta = 1,28$ ppm, die Methylenprotonen, die einer Doppelbindung benachbart sind, ergeben ein Multiplett bei $\delta = 2,04$ ppm. In Verbindung 51 kommen zwei Sorten von Vinylprotonen vor. Die endständigen Vinylprotonen ergeben zwei Dubletts bei

$\delta = 4,97$ ppm (11 Hz, trans) und $\delta = 5,00$ ppm (7 Hz, cis). Das Multiplett bei $\delta = 5,80$ ppm bilden die anderen Vinylprotonen.

Im Massenspektrum erscheint der Pik höchster Masse bei $M^+ = 386$, er entspricht auch dem Molpik.

5. Zusammenfassung

Die Darstellung zyklischer dimerer Gallensäuremoleküle aus Lithocholsäure 3 und Desoxycholsäure 2 gelang im Milligramm-Maßstab recht gut. Die erhaltenen Dimeren konnten durch IR-, ^1H -NMR-, Massenspektren und Elementaranalysen eindeutig charakterisiert werden. Verschiedene Versuche zur Bildung von Einschlußverbindungen verliefen erfolglos. Modellbetrachtungen am Kalottenmodell des Desoxycholsäuredimeren zeigten, daß der Hohlraum zur Aufnahme von Gastmolekülen doch relativ klein ist. Die Verknüpfung von zwei Gallensäuremolekülen in C-3-Position über einen Bernsteinsäurediester gelang nicht. Sowohl von der Lithocholsäure 3 als auch von der Desoxycholsäure 2 ließen sich die Hemisuccinate in guter Ausbeute synthetisieren, aber die Dimerenbildung mit 1,1'-Carbonyldiimidazol gelang nicht. Dies kann mit sterischer Hinderung der Imidazolidbildung an A/B-cis-verknüpften Steroiden erklärt werden.

Vorversuche an Modellverbindungen zur Erprobung der Schutzgruppen verliefen erfolgreich, sodaß die Synthese von zwei offenkettigen Steroiddimeren sinnvoll erschien. Die Darstellung von offenkettigen Dimerenkomponenten verlief mit befriedigenden Ausbeuten. Da die dann folgende Abspaltung der Schutzgruppen zu problematisch war, erschien es nicht ratsam, auf diesem Wege fortzufahren.

Der Einbau von Desoxycholsäure 2 und des Dimeren 10 in Lecithin-Vesikel gelang. Die Vesikelbildung konnte durch Elektronenmikroskopie und Bestimmung der Phasenübergangstemperatur nachgewiesen werden.

Auf dem Wege zu C-C-verknüpften Steroiddimeren wurden Vorversuche am Cholest-4-en-3-on 35, das durch Oxidation der 3-Hydroxylgruppe des Cholesterins mit Collins-Reagenz zum 3-Keton dargestellt wurde, durchgeführt. Zunächst wurde die Einführung einer Ethylidengruppe am Cholest-4-en-3-on versucht, was auch mit befriedigender

Ausbeute gelang. Als problematisch erwiesen sich dagegen die Versuche zur Darstellung eines offenkettigen Dimeren aus zwei Cholest-4-en-3-on-Molekülen in einer einstufigen Reaktion mit Bis-Wittig-Salzen. Statt der erhofften Wittig-Reaktion lief nur die basenkatalysierte Nebenreaktion zum 1,6-Hexandiyl-bis(diphenylphosphinoxid) ab. Auch eine Variation der Reaktionsbedingungen, Bis-Wittig-Salz und Carbonylkomponente werden vorgelegt und die Base wird zugetropft, brachten keinen Erfolg.

An reaktiveren Aldehyden bewährte sich die Methode der Bildung von Dimeren mit Hilfe der Wittig-Reaktion in einer einstufigen Reaktion mit Bis-Wittig-Salzen durchaus. Es gelang ohne Schwierigkeiten, aus Retinal durch Knüpfung von zwei neuen C-C-Bindungen ein Dimeres herzustellen, bei dem durch Einführung von vier einfach gebundenen Kohlenstoffatomen die Konjugation unterbrochen ist. Außerdem war es durch Anwendung dieser Methode möglich, aus Undecylenaldehyd in einem Reaktionsschritt eine C-28-Kette mit zwei endständigen C-C-Doppelbindungen zu erhalten, aus der durch Einführung polarer Kopfgruppen an diesen Doppelbindungen potentielle Vesikelbildner dargestellt werden können.

6. Experimenteller Teil

Allgemein verwendete Methoden

Dünnschichtchromatographie (DSC): Verwendet wurden "DC-Karten SI F", 10 x 20 cm, Kieselgel mit Fluoreszenzindikator 254 nm auf Aluminiumkarten; Schichtdicke 0,2 mm; der Firma Riedel-De Haen.

Präparative Schichtchromatographie (präp.SC): Eine Suspension von 1 Teil SiO_2 (PF_{254/366}) der Firma Merck und 2,5 Teilen Wasser wurde auf Glasplatten (20 x 100 cm) in 1 mm Schichtdicke aufgetragen. Nach Lufttrocknung wurde vier Stunden bei 140 °C aktiviert. Die Substanzgemische wurden bandartig aufgetragen und in den jeweils angegebenen Laufmittelmischungen entwickelt. Unter UV-Licht sichtbare Substanzbänder wurden abgetragen und mit Chloroform eluiert.

Schmelzpunkte: Die Schmelzpunkte der unter 200 °C schmelzenden Substanzen wurden mit der Apparatur nach Tottoli (der Firma Büchi), die der über 200 °C schmelzenden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop (der Firma Reichert) bestimmt. Alle Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

IR-Spektren: Zur Aufnahme der IR-Spektren diente ein Perkin-Elmer IR 257 Spektralphotometer.

^1H -NMR-Spektroskopie: Die ^1H -NMR-Spektren wurden mit einem Varian-XL-100-Spektrometer (100 MHz) und einem Bruker-WH 270-Spektrometer (270 MHz) aufgenommen. Als innerer Standard diente Tetramethylsilan (TMS); die jeweiligen Lösungsmittel sind angegeben. Abkürzungen der Spin-Kopplungsmuster: Singulett (s), Dublett (d), Triplett (t), Multiplett (m), Doppeldublett (dd).

Massenspektrometrie: Zur Aufnahme der Massenspektren dienten ein CH 5 DF bzw. ein MAT 112 Massenspektrometer der Firma Varian-MAT.

Elementaranalysen: Die Elementaranalysen wurden im mikroanalytischen Labor des Instituts für Organische Chemie der FU Berlin durchgeführt.

Beschallung: Bei den Beschallungsversuchen mit Ultraschall wurde ein Gerät der Firma Ultrasonics W 18 SF (Frequenz 20 KHz, ca. 100 Watt) verwendet.

Differentialthermoanalyse: Die Phasenübergangstemperaturen wurden mit einem DSC-20 Differential-Kalorimeter der Firma Perkin-Elmer bestimmt.

Elektronenmikroskopie: Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden am Institut für Elektronenmikroskopie der FU Berlin an einem Elmiskop 1139 der Firma Siemens gemacht.

6.1. Zyklische Dimere aus Gallensäuren

6.1.1. Darstellung von 3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-säure-methylester 7

In einem 250 ml Kolben wurden 752 mg (0,2 mmol) 3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-säure 3 in 150 ml Methanol gelöst und langsam unter Rühren mit soviel etherischer Diazomethanlösung, hergestellt nach Organikum⁴²⁾, versetzt, bis eine schwache Gelbfärbung bestehenblieb und bei weiterem Zusatz von Diazomethanlösung keine Stickstoffentwicklung mehr zu beobachten war. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Chloroform aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das erhaltene Produkt der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel Chloroform) unterworfen.

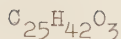
Ausbeute: 794 mg, 96 % d.Th.

IR-Spektrum: (CHCl₃)

$\nu =$	3600	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
=	3580 - 3200	cm ⁻¹	OH in H-Brücken
=	2920	cm ⁻¹	CH-Valenzschwingung von CH ₂ und CH ₃
=	2855	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH
=	1720	cm ⁻¹	Estercarbonylschw.

¹H-NMR-Spektrum: (270 MHz) in CDCl₃

$\delta =$	0,66	ppm	s	3 H	18-CH ₃
=	0,93	ppm	d	3 H	21-CH ₃
=	0,94	ppm	s	3 H	19-CH ₃
=	1,00 - 2,0	ppm	m		Steroidgrundgerüst
=	2,3	ppm	m	2 H	23-CH ₂
=	3,65	ppm	m	1 H	3-CH
=	3,68	ppm	s	3 H	O-CH ₃

Massenspektrum:

MG: 390,59

M^+	-	=	390	7,5 %	
M^+	- 18	=	372	100 %	- H_2O
M^+	- 33	=	357	20 %	- H_2O , $-CH_3$
M^+	- 72	=	318	26 %	- C_4H_8O
M^+	- 175	=	215	64 %	- H_2O , $- C_9H_{17}O_2$

6.1.2. Darstellung von 5 β -Cholan-3 α ,24-diol 4

1 g (2,7 mmol) Lithocholsäure 3 (3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-säure) wurden in 250 ml trockenem THF gelöst und mit 150 mg (4,8 mmol) Lithiumaluminiumhydrid portionsweise versetzt. Nach dem Abklingen der heftigen Reaktion wurde eine Stunde unter Rückfluß gekocht. War das Reaktionsgemisch abgekühlt, wurde vorsichtig nicht umgesetztes Lithiumaluminiumhydrid durch Zugabe von Wasser vernichtet und das entstandene Aluminiumhydroxid abfiltriert. Das THF wurde im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und mehrmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Chloroform im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 697 mg, 73 % d.Th.Schmelzpunkt: 174 - 175 °CIR-Spektrum: (KBr)

$\nu =$	3500 - 3100	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
	= 2920	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH_2 , CH_3
	= 2845	cm ⁻¹	CH-Valenzschwingung von CH

$^1\text{H-NMR-Spektrum:}$ (100 MHz) in CD_3OD

$\delta = 0,69$	ppm	s	3 H	18- CH_3
$= 0,94$	ppm	s	3 H	19- CH_3
$= 0,96$	ppm	d	3 H	21- CH_3
$= 1,0 - 2,1$	ppm	m		Steroidgrundgerüst
$= 3,54$	ppm	m	3 H	24- CH_2 , 3-CH

Massenspektrum: $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_2$ MG: 362.63

M^+	$= 362$	2 %	
$\text{M}^+ - 18$	$= 344$	35 %	- H_2O
$\text{M}^+ - 33$	$= 329$	15 %	- CH_3
$\text{M}^+ - 72$	$= 290$	10 %	- Ring A
$\text{M}^+ - 132$	$= 230$	20 %	
$\text{M}^+ - 147$	$= 215$	100 %	- H_2O , - Ring D

6.1.3. Darstellung von 3 α -(Chloroxoacetyloxy)-5 β -cholan-24-oylchlorid 5

500 mg (1,32 mmol) Lithocholsäure 3 wurden in 5 ml (56,7 mmol) Oxalylchlorid eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nicht umgesetztes Oxalylchlorid wurde im Vakuum bei Raumtemperatur entfernt.

IR-Spektrum: (CCl_4)

$\nu = 2935$	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2 , CH_3
$= 2863$	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH
$= 1786$	cm^{-1}	Säurecarbonylschwingung
$= 1748$	cm^{-1}	Estercarbonylschwingung

Massenspektrum: $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{Cl}_2\text{O}_4$ MG: 485,62

M^+	$= 484/486$	38 %	
$\text{M}^+ - 15$	$= 469$	10 %	- CH_3
$\text{M}^+ - 36$	$= 448$	7 %	- HCl

M ⁺ - 53 =	431	12 %	
M ⁺ - 72 =	412	15 %	- CO, - CO ₂
M ⁺ - 106 =	378	33 %	
M ⁺ - 121 =	363	21 %	- C ₅ H ₉ ClO
M ⁺ - 146 =	338	38 %	
M ⁺ - 161 =	323	57 %	- C ₆ H ₆ ClO ₃
M ⁺ - 309 =	175	19 %	
M ⁺ - 403 =	81	100 %	

6.1.4. Darstellung von 3 α -[(Carboxycarbonyl)oxy]-5 β -cholan-24-säure-24,3-(5 β -cholan-3 α ,24-diyl)-ester 6

540 mg (1,32 mmol) 3 α -(2-Chlor-2-oxoacetyloxy)-5 β -cholan-24-oylchlorid 5 wurden in einem 2 l Dreihalskolben mit Rückflußkühler, Magnetrührer und Tropftrichter in 1,5 l trockenem Benzol in einer Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Dazu wurden dann sehr langsam (ca. ein Tropfen pro Minute) 477 mg (1,32 mmol) 5 β -Cholan-3 α ,24-diol 4, gelöst in 100 ml trockenem THF, getropft. Dann wurde eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abgezogen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und dreimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Das zurückbleibende Öl wurde der präp. Schichtchromatographie unterworfen (Laufmittel: Chloroform/Methanol 4 : 1).

Ausbeute: 187 mg, 24 % d.Th.

IR-Spektrum: (CCl₄)

ν = 2930	cm ⁻¹	CH-Valenzschwingung von CH ₂ , CH ₃
= 2860	cm ⁻¹	CH-Valenzschwingung von CH
= 1768	cm ⁻¹	
= 1735	cm ⁻¹	Oxalsäureestercarbonylschwingung

¹H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl₃

δ = 0,69 ppm s 18-CH₃

$\delta = 0,95$	ppm	s	19-CH ₃
$= 0,97$	ppm	d	21-CH ₃
$= 1,0 - 2,0$	ppm	m	Steroidgrund- gerüst
$= 2,21$	ppm	m	23-CH ₂
$= 4,17$	ppm	m	24-CH ₂
$= 4,82$	ppm	m	3-CH

Massenspektrum: C₅₀H₇₈O₆ MG: 775,23

M ⁺	=	774	7 %	
M ⁺ - 15	=	759	3 %	- CH ₃
M ⁺ - 90	=	684	10 %	
M ⁺ - 326	=	448	50 %	
M ⁺ - 517	=	257	100 %	
M ⁺ - 544	=	230	45 %	
M ⁺ - 559	=	215	85 %	

Elementaranalyse:

	ber.	gef.
C	77,47 %	77,36 %
H	10,14 %	10,03 %

6.1.5. Darstellung von 5 β -Cholan-3 α ,12 α ,24-triol 8

1 g (2,5 mmol) Desoxycholsäure 2 (3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure) wurden in 250 ml trockenem THF gelöst und mit 150 mg (4,8 mmol) Lithiumaluminiumhydrid portionsweise versetzt. Nach dem Abklingen der heftigen Reaktion wurde eine Stunde unter Rückfluß gekocht. War das Reaktionsgemisch abgekühlt, so wurde nicht umgesetztes Lithiumaluminiumhydrid durch Zugabe von Wasser vorsichtig vernichtet und das Aluminiumhydroxid abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das THF im Vakuum abgezogen.

Schmelzpunkt: 156 °C

Ausbeute: 850 mg, 88 % d.Th.

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu =$	3640 - 3100	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
=	2920	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH ₂ , CH ₃
=	2847	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH

¹H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in CD₃OD

$\delta =$	0,73	ppm	s	3 H	18-CH ₃
=	0,94	ppm	s	3 H	19-CH ₃
=	1,01	ppm	d	3 H	21-CH ₃
=	1,2 - 2,0	ppm	m		Steroidgrundgerüst
=	3,53	ppm	m	3 H	24-CH ₂ , 3-CH
=	3,98	ppm	m	1 H	12-CH

Massenspektrum:

C₂₄H₄₂O₃

MG: 378,62

M ⁺	=	378	2 %	
M ⁺ - 18	=	360	13 %	- H ₂ O
M ⁺ - 33	=	345	6 %	- H ₂ O, - CH ₃
M ⁺ - 36	=	342	30 %	- 2 H ₂ O
M ⁺ - 51	=	327	11 %	- 2 H ₂ O, - CH ₃
M ⁺ - 90	=	288	8 %	- H ₂ O, - Ring A
M ⁺ - 105	=	273	100 %	- H ₂ O, - Seitenkette
M ⁺ - 123	=	255	99 %	- 2 H ₂ O, - Seitenk.
M ⁺ - 164	=	214	15 %	- 2 H ₂ O, - Ring C
M ⁺ - 177	=	201	17 %	- H ₂ O, - Ring A,
				- Seitenkette

6.1.6. Darstellung von 3 α -(2-Chlor-2-oxoacetyloxy)-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-oylchlorid 9

500 mg (1,27 mmol) Desoxycholsäure 2 wurden in 5 ml (56,7 mmol) Oxalylchlorid eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nicht umgesetztes Oxalylchlorid wurde dann im Vakuum bei Raumtemperatur entfernt.

IR-Spektrum: (CHCl₃)

$\nu =$	3500 - 3100	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
=	2936	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH ₂ , CH ₃
=	2864	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH
=	1786	cm ⁻¹	Säurecarbonylschwingung
=	1748	cm ⁻¹	Estercarbonylschwingung

Massenspektrum: C₂₆H₃₈Cl₂O₅ MG: 501,47

M ⁺	=	500	
M ⁺ - 18	=	482/484	37 % - H ₂ O
M ⁺ - 33	=	467	10 % - H ₂ O, - CH ₃
M ⁺ - 54	=	446	70 % - H ₂ O, - HCl
M ⁺ - 69	=	431	23 % - H ₂ O, - CH ₃ , - HCl
M ⁺ - 125	=	375	70 % - H ₂ O, - C ₂ ClO ₃
M ⁺ - 137	=	363	100 % - H ₂ O, - C ₅ H ₈ ClO
M ⁺ - 162	=	338	73 %

6.1.7. Darstellung von 3 α -[(Carboxycarbonyl)oxy]-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-säure-24,3-(12 α -hydroxy-5 β -cholan-3 α ,24-diyl)-ester 10

635 mg (1,27 mmol) 3 α -(2-Chlor-2-oxoacetyloxy)-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-oylchlorid wurden in einem 2 l Dreihalskolben mit Rückflußkühler, Magnetührer und Tropftrichter in 1,5 l wasserfreiem Toluol in einer Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Dazu wurden dann sehr langsam 480 mg

(1,27 mmol) 5 β -Cholan-3 α ,12 α ,24-triol 8, gelöst in 100 ml wasserfreiem THF, getropft. Anschließend wurde eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und dreimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel abgezogen und der Rückstand der präp. Schichtchromatographie unterworfen (Laufmittel: Chloroform/Methanol 5:1). Die unter der UV-Lampe sichtbar werdende Zone (R_F = 0,3) wurde abgetragen und mit Chloroform eluiert.

Ausbeute: 630 mg, 61,5 % d.Th.

Schmelzpunkt: 183 - 185 °C

IR-Spektrum: (KBr)

ν = 3638	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
= 3500 - 3100	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
= 2930	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH ₂ , CH ₃
= 2856	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH
= 1757	cm ⁻¹	Oxalsäureestercarbonylschw.
= 1732	cm ⁻¹	Oxalsäureestercarbonylschw.

¹H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl₃

δ = 0,68	ppm	s	6 H	18-CH ₃
= 0,76	ppm	s	6 H	19-CH ₃
= 0,93	ppm	d	6 H	21-CH ₃
= 1,0 - 2,0	ppm	m		Steroidgrundgerüst
= 2,27	ppm	m	2 H	23-CH ₂
= 3,98	ppm	m	2 H	12-CH
= 4,30	ppm	m	2 H	24-CH ₂
= 4,88	ppm	m	1 H	3-CH
= 5,26	ppm	m	1 H	3-CH

Massenspektrum: $C_{50}H_{78}O_8$

MG: 807,12

M^+	=	806	13 %	
$M^+ - 18$	=	788	39 %	- H_2O
$M^+ - 36$	=	770	100 %	- 2 H_2O
$M^+ - 62$	=	744	13 %	- H_2O , - CO_2
$M^+ - 80$	=	726	9 %	- 2 H_2O , - CO_2
$M^+ - 90$	=	716	12 %	
$M^+ - 108$	=	698	13 %	
$M^+ - 126$	=	680	14 %	
$M^+ - 137$	=	669	15 %	

6.1.8. Darstellung von 3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure-methylester 11

In einem 250 ml Kolben wurden 785 mg (2 mmol) Desoxycholsäure 2 in 150 ml Methanol gelöst. Zu dieser Lösung wurde dann unter Rühren solange eine etherische Diazomethanlösung, hergestellt nach Organikum ⁴⁰⁾, gegeben, bis eine schwache Gelbfärbung bestehenblieb und weiterer Zusatz von Diazomethanlösung keine Stickstoffentwicklung mehr zur Folge hatte. Dann wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlpumpenvakuum entfernt und der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit Wasser gewaschen und dann über Natriumsulfat getrocknet. Das erhaltene Produkt wurde dann der präp. Schichtchromatographie (Laufmittel Chloroform mit 3 % Methanol) unterworfen.

Ausbeute: 690 mg, 85 % d.Th.

IR-Spektrum: ($CHCl_3$)

$\nu =$	3600	cm^{-1}	OH-Valenzschwingung
=	3580 - 3200	cm^{-1}	OH in H-Brücken
=	2925	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2 , CH_3
=	2860	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH
=	1730	cm^{-1}	Estercarbonylschwingung

$^1\text{H-NMR-Spektrum}$: (100 MHz) in CDCl_3

$\delta = 0,68$	ppm	s	3 H	18- CH_3
$= 0,92$	ppm	s	3 H	19- CH_3
$= 0,98$	ppm	d	3 H	21- CH_3
$= 1,0 - 2,0$	ppm	m		Steroidgrundgerüst
$= 2,32$	ppm	m	2 H	23- CH_2
$= 3,62$	ppm	m	1 H	3-CH
$= 3,67$	ppm	s	3 H	O- CH_3
$= 3,98$	ppm	m	1 H	12-CH

Massenspektrum: $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_4$ MG: 406,59

M^+	=	406	45 %	
$\text{M}^+ - 15$	=	391	19 %	- CH_3
$\text{M}^+ - 36$	=	370	100 %	- 2 H_2O
$\text{M}^+ - 43$	=	363	68 %	- $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$

6.1.9. Darstellung von 3α -(3-Carboxy-1-oxopropoxy)-5 β -cholansäure 12

1 g (2,7 mmol) Lithocholsäure 2 wurde mit 3 g (29,8 mmol) Bernsteinsäureanhydrid in 20 ml Pyridin sieben Tage bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Pyridin im Wasserstrahlpumpenvakuum abgezogen und der Rückstand mit Wasser versetzt. Das ausfallende Produkt wurde abgesaugt und mehrmals mit Wasser gewaschen.

Ausbeute: 985 mg, 77 % d.Th.

Schmelzpunkt: 235 °C

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu = 3600 - 2500$	cm^{-1}	OH-Valenzschwingung
$= 2940$	cm^{-1}	CH-Valenzschwingung von CH_2 , CH_3

= 2870	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH
= 1738	cm ⁻¹	Estercarbonylschwingung
= 1710	cm ⁻¹	Säurecarbonylschwingung

¹H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in CD₃OD

δ = 0,63	ppm	s	3 H	18-CH ₃
= 0,91	ppm	d	3 H	21-CH ₃
= 0,91	ppm	s	3 H	19-CH ₃
= 1,0 - 2,2	ppm	m		Steroidgrundgerüst
= 2,58	ppm	s	4 H	CH ₂ aus Bernsteinsäure
= 3,63	ppm	m	1 H	3-CH

6.1.10. Darstellung von 3α,3α'-[1,4-Dioxobutandiy]bis(oxy)]
bis[5β-cholan-24-ol] 13

1 g (2,1 mmol) 3α-(3-Carboxy-1-oxopropoxy)-5β-cholan-24-säure 12 und 360 mg (2,2 mmol) N,N'-Carbnylimidazol wurden in 40 ml wasserfreiem THF gelöst und die Lösung bei Raumtemperatur über Nacht stehengelassen. Dann wurden 1,4 g (3,9 mmol) von Verbindung 4 hinzugegeben und drei Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend daran wurde die Reaktionsmischung fünf Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wurde die Mischung in Wasser gegeben und mit Chloroform extrahiert. Die gesammelten Chloroformextrakte wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und der Rückstand über Kieselgelplatten (Laufmittel Cyclohexan/Essigester 7:3) chromatographiert. Bei dem isolierten Produkt handelte es sich nicht um das gewünschte Dimere sondern um das Edukt 12.

6.1.11. Präparation von Vesikellösungen aus Lecithin
und Desoxycholsäure 2

Im Folgenden wird die Prozedur beschrieben, die in allen Fällen angewendet wurde.

In ein Präparateglas ($\varnothing$ 2 cm, 10 ml) wurden 20 mg Lecithin und 2 mg Desoxycholsäure 2 eingewogen und 4 ml tridest. Wasser zugegeben und zweimal 15 Minuten bei ca. 15 Watt beschallt. Zunächst bildete sich eine Suspension, die mit Temperaturanstieg und längerer Beschallzeit klarer wurde. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur lag eine klare, schwach opaleszierende Lösung vor.

6.1.12. Präparation von Vesikellösungen aus Lecithin
und dem Dimeren 10

Wie unter 6.1.11. beschrieben, wurden 20 mg Lecithin und 2 mg Dimeres 10 zweimal 15 Minuten beschallt. Es lag nach dem Beschallen wieder eine klare schwach opaleszierende Lösung vor.

6.1.13. Präparation von Vesikellösungen aus Desoxy-
cholsäure 2

20 mg Desoxycholsäure 2 wurden in 4 ml tridest. Wasser 30 Minuten bei ca. 15 Watt beschallt. Es bildete sich beim Beschallen eine Suspension, die nicht klarer wurde. Es konnte keine Vesikelbildung beobachtet werden.

6.1.14. Präparation von Vesikellösungen aus
3 α -(3-Carboxy-1-cxopropoxy)-5 β -cholan-24-
säure 12

20 mg von Verbindung 12 wurden 30 Minuten in 4 ml tridest. Wasser bei ca. 15 Watt beschallt. Es bildete

sich beim Beschallen eine Suspension, die nicht klarer wurde. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur setzte sich Verbindung 12 am Boden des Präparateglases ab. Es konnte keine Vesikelbildung beobachtet werden.

6.1.15. Präparation der Vesikellösungen zur Elektronenmikroskopie

Als Trägermaterial dienten Kupfernetze ($\phi = 0,3 \text{ cm}$), die im Institut für Elektronenmikroskopie mit Formvar oder Kohle befilmt wurden. Zur Kontrastierung diente 1 %ige wäßrige Uranylacetatlösung (pH 4,5).

Ein Tropfen Vesikellösung wurde auf das von einer Mikropinzette an einem Stativ gehaltene, befilmte Trägernetz aufgebracht. Danach wurde ein etwa gleich großer Tropfen Kontrastierungsmittel zugegeben. Nach etwa einer Minute Einwirkungszeit wurde die Flüssigkeit seitlich mit Filterpapier fast völlig abgesaugt. Das Trägernetz wurde danach etwa einen Tag an der Luft getrocknet.

6.1.16 Bestimmung der Phasenübergangstemperaturen

Die Phasenübergangstemperaturen der Vesikel wurden mit einem Differential Scanning Calorimeter (DSC-2) der Firma Perkin Elmer bestimmt. Dazu wurden die Proben wie folgt vorbereitet: In je ein Großraumpfännchen aus rostfreiem Stahl wurden mit einer Eppendorf-Pipette 70 μl Vesikellösung und 70 μl Wasser eingefüllt. Die mit einem Deckel und einer O-Ringdichtung versehenen Pfännchen wurden dann in einer Presse verschlossen. Zeigen die Pfännchen keine Deformationen, können sie in den Meßkopf eingesetzt und vermessen werden.

6.2. Versuche zur Darstellung zyklischer tetramerer Gallensäuremoleküle

6.2.1. Modellverbindungen

6.2.1.1. Darstellung von 3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester 19

1 g (2,4 mmol) Natriumdesoxycholat wurde in 50 ml wasserfreiem DMSO gelöst und mit 1 ml (8,7 mmol) Benzylchlorid fünf Stunden auf 70 °C erhitzt. Anschließend wurde das DMSO im Wasserstrahlpumpenvakuum abgezogen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde das Chloroform abgezogen und der ölige Rückstand der präp. Schichtchromatographie unterworfen (Laufmittel Chloroform/Methanol 6:1).
Ausbeute: 983 mg, 85 % d.Th.

IR-Spektrum: (CHCl₃)

$\nu =$	3580	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
=	3560 - 3100	cm ⁻¹	OH-Schw. in H-Brücken
=	2923	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH ₃ , CH ₂
=	2858	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH
=	1735	cm ⁻¹	Estercarbonylschwingung

¹H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl₃

$\delta =$	0,65	ppm	s	3 H	18-CH ₃
=	0,91	ppm	s	3 H	19-CH ₃
=	0,96	ppm	d	3 H	21-CH ₃
=	1,0 - 2,0	ppm	m		Steroidgrundgerüst
=	2,36	ppm	m	2 H	23-CH ₂
=	3,60	ppm	m	1 H	3-CH
=	3,91	ppm	m	1 H	12-CH
=	5,12	ppm	s	2 H	Benzyl-CH ₂

= 7,38 ppm s 5 H arom. H

Massenspektrum: $C_{31}H_{46}O_4$ MG: 482,68

M^+	=	482	4 %	
M^+	- 18 =	464	16 %	- H_2O
M^+	- 36 =	446	50 %	- 2 H_2O
M^+	- 51 =	431	5 %	- 2 H_2O , - CH_3
M^+	- 91 =	391	5 %	- Benzyl
M^+	- 108 =	374	32 %	- Benzylalkohol
M^+	- 127 =	356	45 %	
M^+	- 391 =	91	100 %	

6.2.1.2. Darstellung von 3 α -(Chloroxoacetyloxy)-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester 20

240 mg (0,49 mmol) Desoxycholsäurebenzylester 19 wurden in 5 ml (56,7 mmol) Oxalylchlorid gelöst und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das überschüssige Oxalylchlorid im Vakuum bei Raumtemperatur abgezogen.

Ausbeute: 270 mg, 96 % d.Th.

6.2.1.3. Darstellung von 3 α -(Ethoxyoxoacetyloxy)-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester 21

270 mg (0,47 mmol) 3 α -(Chloroxoacetyloxy)-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-säure-benzylester wurden in 50 ml trockenem Benzol gelöst und 5 ml (86 mmol) wasserfreies Ethanol dazugegeben und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mehrmals mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels blieb ein farbloses Öl zurück, das anschließend der präp. Schichtchromatographie (Laufmittel Chloroform/2 % Methanol) unterworfen wurde.

Ausbeute: 230 mg, 84 % d.Th.

IR-Spektrum: (CHCl_3)

$\nu =$	3600 - 3100	cm^{-1}	OH-Valenzschwingung
=	2930	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2 , CH_3
=	2857	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH
=	1750	cm^{-1}	Oxalsäureestercarbonyl-
=	1730	cm^{-1}	schwingung

 ^1H -NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl_3

$\delta =$	0,66	ppm	s	3 H	18- CH_3
=	0,73	ppm	s	3 H	19- CH_3
=	0,93	ppm	d	3 H	21- CH_3
=	1,0 - 2,0	ppm	m		Steroidgrundgerüst
=	1,39	ppm	t	3 H	Ester- CH_3
=	2,35	ppm	m	2 H	23- CH_2
=	3,59	ppm	m	1 H	3-CH
=	3,96	ppm	m	1 H	12-CH
=	4,31	ppm	q	2 H	Ester- CH_2
=	5,10	ppm	s	2 H	Benzyl- CH_2
=	7,36	ppm	s	5 H	arom.-H

6.2.1.4. Darstellung von 3α -(Ethoxyoxoacetyloxy)-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-säure 22

2 g (3,4 mmol) 3α -(Ethoxyoxoacetyloxy)-12 α -hydroxy-5 β -cholan-24-säurebenzylester wurden in 10 ml wasserfreiem THF gelöst und mit 150 mg Palladium-Aktivkohle (10 % Pd) als Katalysator bei einem Wasserstoffdruck von einem bar bei 50 °C drei Stunden hydriert. Nach dem Abkühlen wurde die Palladium-Aktivkohle abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Das zurückbleibende Öl wurde der präp. Schichtchromatographie (Laufmittel Chloroform) unterworfen.

Ausbeute: 1,4 g, 84 % d.Th.

^1H -NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl_3

$\delta = 0,66$	ppm	s	3 H	18- CH_3
= 0,73	ppm	s	3 H	19- CH_3
= 0,93	ppm	d	3 H	21- CH_3
= 1,0 - 2,0	ppm	m		Steroidgrundgerüst
= 1,39	ppm	t	3 H	Ester- CH_3
= 2,35	ppm	m	2 H	23- CH_2
= 3,59	ppm	m	1 H	3-CH
= 3,96	ppm	m	1 H	12-CH
= 4,31	ppm	q	2 H	Ester- CH_2

6.2.1.5. Darstellung von 3 α ,12 α -Bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-säure 23

1 g (2,55 mmol) Desoxycholsäure 2 wurde in 50 ml wasserfreiem THF gelöst und mit 5 ml (0,05 mol) 2,3-Dihydro-4H-pyran versetzt. Dazu wurde dann eine Spatelspitze p-Toluolsulfonsäure als Katalysator gegeben und das Reaktionsgemisch gelinde erwärmt und eine Stunde gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und mehrmals mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das zurückbleibende Öl der präp. Schichtchromatographie (Laufmittel Chloroform/ 2 % Methanol) unterworfen.

Ausbeute: 1,26 g, 88 % d.Th.

IR-Spektrum: (CHCl_3)

$\nu = 3600 - 3100$	cm^{-1}	OH-Valenzschwingung
= 2930	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_3 , CH_2 ,
= 2860	cm^{-1}	CH
= 1700	cm^{-1}	Säurecarbonylschwingung

^1H -NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl_3

$\delta =$	0,60	ppm	s	3 H	18- CH_3
$=$	0,83	ppm	s	3 H	19- CH_3
$=$	0,92	ppm	d	3 H	21- CH_3
$=$	3,50	ppm	m	6 H	
$=$	3,90	ppm	m		
$=$	4,73	ppm	m	3 H	

Massenspektrum: $\text{C}_{34}\text{H}_{56}\text{O}_6$ MG: 560,79

M^+	$=$	560	1 %	
$\text{M}^+ - 84$	$=$	476	2 %	$- \text{C}_5\text{H}_8\text{O}$
$\text{M}^+ - 168$	$=$	392	5 %	$- 2 \text{C}_5\text{H}_8\text{O}$
$\text{M}^+ - 186$	$=$	374	10 %	$- \text{H}_2\text{O}$
$\text{M}^+ - 204$	$=$	356	100 %	$- 2 \text{H}_2\text{O}$
$\text{M}^+ - 219$	$=$	341	10 %	$- \text{CH}_3$

6.2.1.6. Darstellung von $3\alpha, 12\alpha$ -Bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)]- 5β -cholan-24-ol 24

1,5 g (2,7 mmol) $3\alpha, 12\alpha$ -Bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]- 5β -cholan-24-säure wurden in 150 ml wasserfreiem THF gelöst und vorsichtig portionsweise mit 150 mg (4,8 mmol) Lithiumaluminiumhydrid versetzt. Nach dem Abklingen der heftigen Reaktion wurde eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Als das Reaktionsgemisch abgekühlt war, wurde das überschüssige Lithiumaluminiumhydrid vorsichtig durch Zugabe von Wasser vernichtet und das entstandene Aluminiumhydroxid abfiltriert. Dann wurde fast bis zur Trockne eingeeengt und der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels im Wasserstrahlpumpenvakuum blieb ein gelbliches Öl zurück. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung zeigte ein einheitliches Produkt.

Ausbeute: 1,4 g, 95 % d.Th.

IR-Spektrum: (Film)

$\nu =$	3600 - 3100	cm^{-1}	OH-Valenzschwingung
$=$	2930	cm^{-1}	CH-Valenzschwingungen von CH_3 ,
$=$	2860	cm^{-1}	CH_2 , CH

 ^1H -NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl_3

$\delta =$	0,61	ppm	s	3 H	18- CH_3
$=$	0,84	ppm	s	3 H	19- CH_3
$=$	0,92	ppm	d	3 H	21- CH_3
$=$	2,38	ppm	m	2 H	24- CH_4
$=$	3,78	ppm	m	5 H	Pos. 6 am Pyranring, 3-CH
$=$	4,73	ppm	m	1 H	12-CH
$=$	5,73	ppm	m	2 H	Pos. 2 am Pyranring

Massenspektrum: $\text{C}_{34}\text{H}_{58}\text{O}_5$ MG: 546,8

M^+	$=$	546	1 %	
$\text{M}^+ - 84$	$=$	462	3 %	- $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}$
$\text{M}^+ - 168$	$=$	378	13 %	- 2 $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}$
$\text{M}^+ - 186$	$=$	360	18 %	- H_2O
$\text{M}^+ - 204$	$=$	342	100 %	- 2 H_2O
$\text{M}^+ - 219$	$=$	327	9 %	- CH_3

6.2.1.7. Darstellung von Chloroxoessigsäure-3 α ,12 α -bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-yl]-ester 25

1 g (1,8 mmol) 3 α ,12 α -Bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy] - 5 β -cholan-24-ol wurden in 30 ml wasserfreiem Toluol gelöst und mit 5 ml (86 mmol) Oxalylchlorid versetzt und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das überschüssige Oxalylchlorid und das Toluol bei Raumtemperatur im Vakuum abgezogen. Zurück blieb ein gelbliches, hochviskoses Öl. Die Ausbeute wurde nicht bestimmt.

6.2.1.8. Darstellung von Oxalsäure[3 α ,12 α -bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-yl]ethyl-ester ²⁶

1,04 g (1,6 mmol) Chloroxoessigsäure [3 α ,12 α -bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-yl]-ester wurden mit 50 ml wasserfreiem Ethanol versetzt und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das überschüssige Ethanol im Vakuum abgezogen, der Rückstand in wenig Chloroform aufgenommen und mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das zurückbleibende gelbe Öl der präp. Schichtchromatographie unterworfen (Laufmittel: Chloroform).

Ausbeute: 850 mg, 82 % d.Th.

IR-Spektrum: (CHCl₃)

$\nu =$	2930	cm ⁻¹	CH-Valenzschwingung von CH ₃ , CH ₂ ,
=	2860	cm ⁻¹	CH
=	1748	cm ⁻¹	Estercarbonylschwingung
=	1720	cm ⁻¹	Estercarbonylschwingung

¹H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl₃

$\delta =$	0,62	ppm	s	3 H	18-CH ₃
=	0,83	ppm	s	3 H	19-CH ₃
=	0,88	ppm	d	3 H	21-CH ₃
=	1,33	ppm	t	3 H	Ethylester-CH ₃
=	2,38	ppm	m	2 H	24-CH ₂
=	3,48	ppm	m	4 H	Pos. 6 am Pyranring
=	4,00	ppm	m	1 H	3-CH
=	4,32	ppm	q	3 H	Ethylester-CH ₂ , 12-CH
=	5,25	ppm	m	2 H	Pos. 2 am Pyranring

6.2.1.9. Darstellung von Oxalsäure-(3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-yl)-ethyl-ester 27

850 mg (1,32 mmol) [3 α ,12 α -Bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-oxy]-5 β -cholan-24-yl]-ethyl-ester wurden in 50 ml ethanolischer Salzsäure (pH = 3) gelöst und 15 Minuten leicht erwärmt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und mehrmals mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Chloroform abgezogen. Das erhaltene Öl wurde der präp. Schichtchromatographie unterworfen (Laufmittel Chloroform/Methanol 5:1). Das neue Produkt fällt als farbloses Öl an.

Ausbeute: 230 mg, 36,5 % d.Th.

IR-Spektrum: (CHCl₃)

ν =	3600 - 3100	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
=	2940	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH ₃ ,CH ₂ ,
=	2860	cm ⁻¹	CH
=	1748	cm ⁻¹	Oxalsäureestercarbonyl-
=	1720	cm ⁻¹	schwingung

¹H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl₃

δ =	0,62	ppm	s	3 H	18-CH ₃
=	0,84	ppm	s	3 H	19-CH ₃
=	0,90	ppm	d	3 H	21-CH ₃
=	1,32	ppm	t	3 H	Ester-CH ₃
=	2,38	ppm	m	2 H	24-CH ₂
=	3,65	ppm	m	1 H	3-CH
=	3,91	ppm	m	1 H	12-CH
=	4,32	ppm	q	2 H	Ester-CH ₂

6.2.1.10. Darstellung von Oxalsäure-[3 α ,12 α -bis [(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-yl]-[12 α -hydroxy-24-oxo-24-(phenylmethoxy)-5 β -cholan-3 α -yl]-ester 28

658 mg (1,32 mmol) Desoxycholsäurebenzylester 19 wurden im Überschuß von Oxalylchlorid gelöst und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird das überschüssige Oxalylchlorid bei Raumtemperatur im Vakuum entfernt. Das erhaltene Produkt wurde dann in einer Stickstoffatmosphäre in 1,5 l wasserfreiem Benzol vorgelegt. Unter Rühren wurden dann langsam 720 mg (1,32 mmol) 3 α ,12 α -Bis [(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-5 β -cholan-24-ol 23, gelöst in wasserfreiem Benzol, zugetropft. Im Anschluß daran wurde eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Zur Aufarbeitung wurde dann eingeeengt und mehrfach mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck abgezogen. Das erhaltene Öl wurde der präp. Schichtchromatographie unterworfen (Laufmittel Chloroform/1 % Methanol). Das neue Produkt fällt als farbloses Öl an.

Ausbeute: 355 mg, 25 % d.Th.

IR-Spektrum: (CHCl₃)

$\nu =$ 3600 - 3100	cm ⁻¹	OH-Valenzschwingung
= 2940	cm ⁻¹	CH-Valenzschw. von CH ₃ , CH ₂ ,
= 2860	cm ⁻¹	CH
= 1760	cm ⁻¹	Oxalsäureestercarbonyl-
= 1720	cm ⁻¹	schwingungen

¹H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl₃

$\delta =$ 0,64	ppm	s	6 H	18-CH ₃
= 0,76	ppm	d	6 H	21-CH ₃
= 0,86	ppm	s	6 H	19-CH ₃
= 2,22	ppm	m	4 H	23-CH ₂ , 24-CH ₂
= 3,65	ppm	m	4 H	Pos. 6 am Pyranring

=	3,91	ppm	m	2 H	3-CH
=	4,24	ppm	m	1 H	12-CH
=	4,78	ppm	m	1 H	12-CH
=	5,06	ppm	s	2 H	CH ₂ -Benzylester
=	5,20	ppm	m	2 H	Pos. 2 am Pyranring
=	7,32	ppm	s	5 H	arom. H

Massenspektrum:C₆₇H₁₀₂O₁₁

MG: 1082,48

M ⁺	=	1082	nicht vorhanden
M ⁺ - 204	=	878	- 2 C ₅ H ₈ O, - 2 H ₂ O
M ⁺ - 222	=	860	- H ₂ O
M ⁺ - 295	=	787	- Benzylalkohol

6.3. Wittigreaktionen

6.3.1. Darstellung von Ethyltriphenylphosphoniumbromid 29

In einem 250 ml Kolben mit Rückflußkühler und Trockenrohr wurden 26,2 g (0,1 mol) Triphenylphosphin in 150 ml trockenem Chloroform gelöst und unter Rühren mit 10,9 g (0,1 mol) Ethylbromid versetzt und zwei Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wurde unter starkem Rühren solange Diethylether zugetropft, bis die Lösung trübe blieb. Im Kühltank fiel dann ein farbloses Produkt aus, das dann abgenutscht und mit wenig Diethylether gewaschen wurde.

Ausbeute: 31,5 g, 85 % d.Th.

Schmelzpunkt: 208 - 209 °C

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu = 3042$	cm^{-1}	arom. - H
$= 2910$	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von $-\text{CH}_3$
$= 2875$	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von $-\text{CH}_2$
$= 1112$	cm^{-1}	P-C aromatisch
$= 750$	cm^{-1}	monosubstituierter Benzolring (fünf benachbarte H)
$= 718$	cm^{-1}	P-C aliphatisch

^1H -NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl_3

$\delta = 1,40$	ppm	dt	3 H
$= 3,82$	ppm	dq	2 H
$= 7,78$	ppm	m	30 H

6.3.2. Darstellung von 1,5 - Pentandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 30

In einem 1l-Kolben mit Rückflußkühler und Trockenrohr wurden 52,4 g (0,2 mol) Triphenylphosphin in trockenem N,N -Dimethylformamid (DMF) gelöst und zusammen mit 23 g (0,1 mol) 1,5 - Dibrompentan drei Stunden unter Rückfluß gekocht. Gegen Ende der Reaktion schieden sich farblose Kristalle ab, die nach dem Abkühlen abfiltriert und mit Diethylether gewaschen wurden.

Ausbeute: 34,5 g, 45,8 % d.Th.

Schmelzpunkt: 265 - 266 °C

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu = 3047 \text{ cm}^{-1}$	arom. - H
$= 2925 \text{ cm}^{-1}$	CH-Valenzschw. von $-\text{CH}_3$
$= 2864 \text{ cm}^{-1}$	CH-Valenzschw. von $-\text{CH}_2$
$= 1438 \text{ cm}^{-1}$	CH-Deformationsschw.
$= 1111 \text{ cm}^{-1}$	P-C aromatisch
$= 750 \text{ cm}^{-1}$	monosubstituierter Benzolring (fünf benachbarte H)
$= 721 \text{ cm}^{-1}$	P-C aliphatisch

^1H -NMR-Spektrum: (270 MHz) in CD_3OD

$\delta = 1,64 \text{ ppm}$	m	6 H	
$= 3,48 \text{ ppm}$	m	4 H	
$= 7,81 \text{ ppm}$	m	30 H	-Phenyl

6.3.3. Darstellung von 1,6 - Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 31

In einem 1 l Kolben mit Rückflußkühler und Trockenröhr wurden 52,4 g (0,2 mol) Triphenylphosphin in trockenem N,N -Dimethylformamid gelöst und zusammen mit 24,4 g (0,1 mol) 1,6 -Dibromhexan drei Stunden unter Rückfluß gekocht. Gegen Ende der Reaktion schieden sich farblose Kristalle ab, die nach dem Abkühlen des Reaktionsgemisches abgenutscht und mit Diethylether gewaschen wurden.

Ausbeute: 33,5 g, 44 % d.Th.

Schmelzpunkt: 297 - 299 °C

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu = 3045 \text{ cm}^{-1}$	arom. - H
$= 2923 \text{ cm}^{-1}$	CH-Valenzschw. von $-\text{CH}_3$
$= 2860 \text{ cm}^{-1}$	CH-Valenzschw. von $-\text{CH}_2$
$= 1438 \text{ cm}^{-1}$	CH-Deformationsschw.
$= 1111 \text{ cm}^{-1}$	P-C aromatisch
$= 749 \text{ cm}^{-1}$	monosubstituierter Benzolring (fünf benachbarte H)
$= 721 \text{ cm}^{-1}$	P-C aliphatisch

$^1\text{H-NMR-Spektrum:}$ (270 MHz) in CD_3OD

$\delta = 1,74 \text{ ppm}$	m	4 H	
$= 1,90 \text{ ppm}$	m	2 H	
$= 3,50 \text{ ppm}$	m	4 H	
$= 7,82 \text{ ppm}$	m	30 H	-Phenyl

Elementaranalyse:

	C %	H %
Berechnet	65,63	5,50
Gefunden	64,58	5,30

6.3.4. Darstellung von Dipyridinchrom(VI)oxid 32

In einem 500 ml Dreihalskolben mit Innenthermometer wurden unter Rühren mit einem Magnetrührer 20 g (0,2 mol) CrO_3 in kleinen Portionen zu 125 ml (1,55 mol) trockenem Pyridin gegeben. (Umgekehrtes Vorgehen führt zum Entflammen des Reaktionsgemisches!). Die Reaktionstemperatur wurde bei 15 - 20 °C gehalten. Nach einigen Minuten wurde das Reaktionsgemisch hochviskos und nahm eine gelbe bis hellbraune Farbe an. Dann wurde mehrmals mit Petrolether gewaschen und dekantiert. Das dann erhaltene feste Reaktionsprodukt wurde abgenutscht und nochmals mit Petrolether gewaschen und dann im Exsikkator bei Wasserstrahlpumpenvakuum über Calciumchlorid getrocknet.

Ausbeute: 42,5 g, 82 % d.Th.

6.3.5. Darstellung von Cholest-5-en-3-on 34

In einem 1 l Dreihalskolben mit Innenthermometer, Magnet- rührer und Tropftrichter wurden 10 g $\text{CrO}_3 \cdot 2$ Pyridin (0,04 mol) bei 0 °C in 400 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach 10 Minuten wurden 2 g Cholesterin (5,2 mmol), in 50 ml trockenem Dichlormethan gelöst, langsam zugetropft. Nach ca. 30 - 45 Minuten konnte das Ende der Oxidation an der Abscheidung der braunschwarzen, teerartigen Reduktionsprodukte des Chroms erkannt werden. Die festen Reduktionsprodukte wurden abfiltriert und das Filtrat je dreimal mit je 100 ml Wasser, dreimal mit 100 ml 3 %-iger Salzsäure und erneut dreimal mit je 100 ml Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Das erhaltene Reaktionsprodukt wurde dann der präparativen Schichtchromatographie an Kieselgel mit Fluoreszenzindikator (1mm; Laufmittel Chloroform) unterworfen. Es wurden im UV-Licht zwei Zonen sichtbar ($R_F = 0,35$, und $R_F = 0,42$), abgetragen und mit Chloroform eluiert.

Ausbeute:Zone 1 ($R_F = 0,35$)

1,07 g 53,5 % d.Th.

Zone 2 ($R_F = 0,42$)

0,1 g 5,6 % d.Th.

IR-Spektrum Zone 1: $\nu = 2940 \text{ cm}^{-1}$ CH-Valenzschw. von CH_3 und CH_2 $= 2870 \text{ cm}^{-1}$

CH-Valenzschwingung

 $= 1687 \text{ cm}^{-1}$ C=O α, β - unges. Keton $= 1625 \text{ cm}^{-1}$

C=C - Doppelbindung

IR-Spektrum Zone 2: $\nu = 2940 \text{ cm}^{-1}$ CH-Valenzschw. von CH_3 und CH_2 $= 2870 \text{ cm}^{-1}$

CH-Valenzschwingung

 $= 1722 \text{ cm}^{-1}$

C=O gesättigt

 $^1\text{H-NMR-Spektrum:}$ (100 MHz) in CDCl_3 $\delta = 0,72 \text{ ppm}$ s 3H 18- CH_3 $= 0,86 \text{ ppm}$ d, 6 Hz 6H 26(27)- CH_3 $= 0,92 \text{ ppm}$ d, 6 Hz 3H 21- CH_3 $= 1,19 \text{ ppm}$ s 3H 19- CH_3 $= 4,35 \text{ ppm}$

s 1H 4-CH

Massenspektrum: $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}$

MG: 384,68

 $\text{M}^+ = 384$ 44 % $\text{M}^+ - 15 = 369$ 15 %- CH_3 $\text{M}^+ - 42 = 342$ 25 %- $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ $\text{M}^+ - 57 = 327$ 8 % $\text{M}^+ - 85 = 299$ 16 %- $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}$ $\text{M}^+ - 113 = 271$ 19 %- C_8H_{17} $\text{M}^+ - 123 = 261$ 29 %- $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}$ $\text{M}^+ - 165 = 229$ 56 %- $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{O}$ $\text{M}^+ - 260 = 124$ 100 %

6.3.6. Darstellung von 3-Ethylidencholest-4-en 36

In einem 100 ml Dreihalskolben mit Rückflußkühler und Gaseinleitungsrohr wurden, nachdem die ganze Apparatur 10 Minuten mit trockenem Argon gespült worden war, 1,14 g (7,8 mmol) Ethyltriphenylphosphoniumbromid 29 in 5 ml trockenem DMSO gegeben. Hierzu kam dann die Lösung von 0,44 g (7,8 mmol) Kalium-tert.-butylat in 45 ml trockenem DMSO. Durch leichtes Rühren mit einem Magnetrührer wurde das Phosphoniumsalz in Lösung gebracht und es entstand die intensiv braunrote Ylidlösung, zu der dann langsam 0,7 g (1,8 mmol) Cholest-4-en-3-on 35, gelöst in 30 ml trockenem DMSO, getropft wurden. Dieses Reaktionsgemisch wurde dann eine Stunde auf 60 °C erhitzt und über Nacht stehen gelassen. Mit 50 ml 10 %iger NaCl-Lösung und 100 g zerstoßenem Eis wurde das Reaktionsgemisch hydrolysiert und anschließend viermal mit Diethylether extrahiert. Die gesammelten Etherextrakte wurden mehrmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vacuum entfernt. Der Rückstand wurde der präp. Schichtchromatographie unterworfen (Laufmittel CHCl_3). Die unter der UV-Lampe sichtbar werdende Zone wurde abgetragen und mit Chloroform eluiert.

Ausbeute: 176 mg, 25 % d.Th.

Schmelzpunkt: 110 °C

IR-Spektrum: (KBr)

= 3030	cm^{-1}	CH-Valenzschwingung
= 2940	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2 und CH_3
= 965	cm^{-1}	CH-„out of plane“-Deformationsschw.

<u>Massenspektrum</u>	$C_{29}H_{48}$	MG: 396,74	
M^+	= 397/399	15 %	
$M^+ - 28$	= 369	13 %	$-C_2H_4$
$M^+ - 120$	= 277	54 %	$-C_9H_{12}$
$M^+ - 196$	= 201	100 %	

6.3.7. Darstellung von 3,3'-(1,6-Hexandiylden)bis[4-cholesten] 37

In einem 250 ml Dreihalskolben mit Rückflußkühler und Gaseinleitungsrohr wurden, nachdem die Apparatur ca. 10 Minuten mit trockenem Argon durchspült worden war, 768 mg (1 mmol) 1,6-Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 31 in 50 ml trockenem DMSO suspendiert. Dazu wurde die Lösung von 225 mg (2 mmol) Kalium-tert.-butylat in 50 ml trockenem DMSO gegeben. Durch leichtes Rühren mit einem Magnetrührer wurde das Phosphoniumsalz in Lösung gebracht und es entstand eine intensiv braune Ylidlösung, zu der dann 768 mg (2 mmol) Cholest-4-en-3-on 35 gelöst in 100 ml trockenem DMSO getropft wurden. Dies Reaktionsgemisch wurde dann drei Stunden auf 80 °C erhitzt und dann über Nacht stehen gelassen. Mit 100 ml 10 %iger Natriumchloridlösung und 150 g zerstoßenem Eis wurde das Reaktionsgemisch hydrolysiert und anschließend viermal mit Chloroform extrahiert. Die gesammelten Chloroformextrakte wurden mehrmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen des Rückstandes zeigten nicht umgesetztes Cholestenon und ein neues Produkt. Nach präp. Schichtchromatographie (Laufmittel Chloroform) konnte das neue Produkt isoliert werden. Es fiel in farblosen Kristallen an.

Schmelzpunkt: 195 - 197 °C

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu =$	3045	cm^{-1}	arom. - H
=	2930	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_3
=	2860	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2
=	1435	cm^{-1}	CH-Deformationsschw.
=	1185	cm^{-1}	P=O
=	1120	cm^{-1}	P-Phenyl
=	750	cm^{-1}	monosubstituierter Benzolring (fünf benachbarte H)
=	718	cm^{-1}	P- CH_2 -

$^1\text{H-NMR-Spektrum:}$ (100 MHz) in CDCl_3

$\delta =$	1,43	ppm	m	4 H
=	1,61	ppm	m	4 H
=	2,20	ppm	m	4 H
=	7,49	ppm	m	12 H
=	7,74	ppm	m	8 H

Massenspektrum: $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_2\text{P}_2$ MG: 486,61

M^+	=	486	19,5 %	
$\text{M}^+ - 77$	=	409	4 %	- Phenyl
$\text{M}^+ - 139$	=	347	2 %	
$\text{M}^+ - 161$	=	325	3 %	
$\text{M}^+ - 201$	=	285	100 %	- $\text{PO}(\text{Phenyl})_2$
$\text{M}^+ - 285$	=	201	67 %	

Bei dem entstandenen Produkt handelt es sich nicht um das gewünschte 3,3'-(1,6-Hexandiyliden)bis[4-cholesten] 37, sondern es lief die Nebenreaktion zum 1,6-Hexandiylbis[di-phenylphosphinoxid] 38 ab. Zur Unterdrückung der basenkatalysierten Nebenreaktion des Wittigsalzes wurde abweichend von

der oben beschriebenen Methode der vorgezogenen Ylidbildung mit Kalium-tert.-butylat, entsprechend der von Nuck beschriebenen Variante, die Base erst später der Mischung aus Wittigsalz und Keton zugesetzt. Aber auch diese Variante führte nicht zum gewünschten Produkt.

6.3.8 Darstellung von 3-Oxo-5 β -cholan-24-säure 39

In einem 1 l Dreihalskolben mit Innenthermometer und Tropftrichter wurden 10 g $\text{CrO}_3 \cdot 2 \text{ Pyridin}$ (0,04 mol) bei 0 °C in 400 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach zehn Minuten wurden 2 g (5,3 mmol) Lithocholsäure 3 (3 α -Hydroxy-5 β -cholansäure), in 50 ml trockenem Dichlormethan und wenig Pyridin gelöst, zugetropft. Nach ca. 30 - 45 Minuten konnte das Ende der Oxidation an der Abscheidung der braunschwarzen, teerartigen Reduktionsprodukte des Chroms erkannt werden. Die festen Reduktionsprodukte wurden abfiltriert und das Filtrat je dreimal mit 100 ml Wasser, dreimal mit je 100 ml 3%-iger Salzsäure und erneut dreimal mit je 100 ml Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Reaktionsprodukt wurde dann der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel Chloroform) unterworfen. Die unter der UV-Lampe sichtbar gemachte Zone wurde abgetragen und mit Chloroform eluiert.

Ausbeute: 1,11 g, 56 % d.Th.

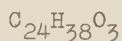
Schmelzpunkt:

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu = 3600 - 3150$	cm^{-1}	OH
$= 2910$	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2
$= 2850$	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_3
$= 1715$	cm^{-1}	C=O Keton
$= 1692$	cm^{-1}	Säurecarbonyl

$^1\text{H-NMR-Spektrum: (100 MHz) in } \text{CDCl}_3$

$\delta = 0,73$	ppm	s	3 H	18-CH ₃
= 0,87	ppm	d	3 H	21-CH ₃
= 1,05	ppm	s	3 H	19-CH ₃
= 1,1 - 2,5	ppm	m		CH ₂ -Steroidgrund- gerüst

Massenspektrum:

MG: 374,60

M^+	=	374	31 %	
$\text{M}^+ - 15$	=	359	59 %	- CH ₃
$\text{M}^+ - 18$	=	356	50 %	- H ₂ O
$\text{M}^+ - 30$	=	344	31 %	- 2 CH ₃
$\text{M}^+ - 70$	=	304	39 %	- C ₄ H ₆ O
$\text{M}^+ - 101$	=	273	25 %	- C ₅ H ₉ O
$\text{M}^+ - 128$	=	246	28 %	
$\text{M}^+ - 143$	=	231	38 %	
$\text{M}^+ - 157$	=	217	100 %	

6.3.9 Darstellung von 3-Oxo-5 β -cholan-24-säuremethylester 40

In einem 250 ml Kolben wurden 2,5 g (6,7 mmol) 3-Oxo-5 β -cholan-24-säure 39 in 100 ml Methanol gelöst und solange unter Rühren mit etherischer Diazomethanlösung versetzt, bis eine schwache Gelbfärbung bestehen blieb und weiterer Zusatz von Diazomethanlösung keine Stickstoffentwicklung mehr zur Folge hatte. Das Lösungsmittel wurde dann im Vakuum entfernt, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und mit verdünnter Natronlauge und Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand der präp. Schichtchromatographie unterworfen (Laufmittel Chloroform).

Ausbeute: 2,44 g, 94 % d.Th.

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu =$ 2940	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2 , CH_3
= 2875	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2 , CH_3
= 1738	cm^{-1}	Estercarbonyl
= 1715	cm^{-1}	Keton

 ^1H -NMR-Spektrum: (100 MHz) in CDCl_3

$\delta =$ 0,69	ppm	s	3 H	18- CH_3
= 0,92	ppm	d	3 H	21- CH_3
= 1,02	ppm	s	3 H	19- CH_3
= 1,1 - 2,5	ppm	m		Steroidgrundgerüst
= 3,66	ppm	s	3 H	O- CH_3

Massenspektrum: $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_3$

MG: 388,62

M^+	= 388	100 %	
$\text{M}^+ - 32$	= 356	31 %	- CH_3OH
$\text{M}^+ - 70$	= 318	29 %	- $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, - Ring A
$\text{M}^+ - 115$	= 273	71 %	- $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2$
$\text{M}^+ - 157$	= 231	37 %	- Seitenkette, - Ring D

Elementaranalyse:

	C %	H %
Berechnet:	77,27	10,38
Gefunden:	76,62	10,41

6.3.10. Darstellung von 3-Ethyliden-5 β -cholan-24-säuremethylester 41

In einem 100 ml Dreihalskolben mit Rückflußkühler und Gas-einleitungsrohr wurden, nachdem die Apparatur ca. 10 Minuten mit trockenem Argon gespült worden war, 1,14 g (7,8 mmol) Ethyltriphenylphosphoniumbromid 29 in 5 ml trockenem DMSO gegeben. Dazu wurde dann die Lösung von 0,44 g (7,8 mmol) Kalium-tert.-butylat in 45 ml DMSO gegeben. Durch leichtes Rühren mit einem Magnetrührer wurde das Phosphoniumsalz in Lösung gebracht und es entstand die intensiv braunrote Ylidlösung, zu der dann langsam 0,7 g (1,8 mmol) 3-Oxo-5 β -cholan-24-säuremethylester 40, gelöst in 30 ml trockenem DMSO, getropft wurden. Dies Reaktionsgemisch wurde eine Stunde auf 60 °C erhitzt und dann über Nacht stehen gelassen. Mit 50 ml 10%-iger Natriumchloridlösung und 100 g zerstoßenem Eis wurde das Reaktionsgemisch hydrolysiert und anschließend viermal mit Chloroform extrahiert. Die gesammelten Chloroformextrakte wurden mehrmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde dünnschichtchromatographisch untersucht und gegen das Edukt 40 laufengelassen. Es konnte kein neues Produkt nachgewiesen werden.

6.3.11 Darstellung von 3,3'-(1,6-Hexandiyliden)-bis[5 β -cholan-24-säure]dimethylester 42

In einem 250 ml Dreihalskolben mit Rückflußkühler und Gaseinleitungsrohr wurden, nachdem die Apparatur zehn Minuten mit trockenem Argon durchspült worden war, 776 mg (2 mmol) 3-Oxo-5 β -cholan-24-säuremethylester 40 und 768 mg (1 mmol) 1,6-Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 31 in 100 ml trockenem DMSO unter Rühren mit einem Magnetrührer gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 80 °C erwärmt und anschließend eine Lösung von 225 mg (2 mmol) Kalium-tert.-butylat in 50 ml trockenem DMSO zugetropft. Nach Beendigung des Zu-

tropfens wurde die Temperatur noch drei Stunden bei 80 °C gehalten und dann über Nacht stehengelassen. Mit 100 ml 10%-iger Natriumchloridlösung und 150 g zerstoßenem Eis wurde das Reaktionsgemisch hydrolysiert und anschließend viermal mit Chloroform extrahiert. Die gesammelten Chloroformextrakte wurden dann mehrmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Dünnschichtchromatographische Untersuchung des Rückstandes ergab kein neues Produkt.

6.3.12 Darstellung von 1,6-Diretinylidenhexan 49
(1,1'-(3,7,18,22-Tetramethyl-1,3,5,7,9,15,17,19,21,23-tetracosadecaen-1,24-diyl)bis[2,6,6,-trimethylcyclohexen])

In einem 250 ml Kolben mit Rückflußkühler und Gaseinleitungsrohr wurden, nachdem die Apparatur zehn Minuten mit trockenem Argon gespült worden war, 568 mg (2 mmol) Retinal 48 und 768 mg (1 mmol) 1,6-Hexandiylbis(triphenylphosphonium)bromid 31 in 100 ml trockenem DMSO unter Rühren mit einem Magnetrührer gelöst. Zu dieser Lösung wurden dann langsam 225 mg (2 mmol) Kalium-tert.-butylat, gelöst in trockenem DMSO, getropft. Im Anschluß daran wurde dann drei Stunden auf 40 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde dann mit 100 ml 10%-iger Natriumchloridlösung und 150 g zerstoßenem Eis hydrolysiert und anschließend viermal mit Diethylether extrahiert. Die gesammelten Etherextrakte wurden mehrmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und dann das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung (Laufmittel Petrolether 40/60 mit 5 % Diethylether) zeigte ein schnellaufendes Produkt mit einem R_f -Wert von 0,95. Die sich anschließende präp. Schichtchromatographie (Laufmittel wie bei DSC) erbrachte 125 mg eines gelben Produktes.

Ausbeute: 125 mg, 20 % d.Th.

IR-Spektrum: (KBr)

$\nu =$	2932	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2 , CH_3
$=$	2861	cm^{-1}	CH-Valenzschw. von CH_2 , CH_3
$=$	1630	cm^{-1}	Diene, Triene
$=$	1452	cm^{-1}	CH-Deformationsschwingung

 ^1H -NMR-Spektrum: (270 MHz) in CDCl_3

$\delta =$	1,04	ppm	s	3 H	1- CH_3
$=$	1,73	ppm	s	3 H	5- CH_3
$=$	1,92	ppm	s	3 H	9- CH_3
$=$	2,03	ppm	s	3 H	13- CH_3
$=$	5,80 - 6,70	ppm			Vinylprotonen

Massenspektrum: $\text{C}_{44}\text{H}_{66}$

MG: 619,09

M^+	$=$	618	34 %	
$\text{M}^+ - 68$	$=$	550	11 %	$-\text{C}_5\text{H}_8$
$\text{M}^+ - 148$	$=$	470	72 %	$-\text{C}_{11}\text{H}_{16}$
$\text{M}^+ - 214$	$=$	404	100 %	$-\text{C}_{16}\text{H}_{22}$
$\text{M}^+ - 240$	$=$	378	33 %	

6.3.13 Darstellung von 1,11,17,27-Octacosatetraen 51

768 mg (1 mmol) 1,6-Hexandiyl(triphenylphosphonium)bromid 31 und 336 mg (2 mmol) Undecylenaldehyd 50 wurden in einem 250 ml Dreihalskolben mit Rückflußkühler und Gaseinleitungsrohr, nachdem die Apparatur zehn Minuten mit trockenem Argon gespült worden war, in 100 ml trockenem DMSO unter Rühren mit einem Magnetrührer gelöst. Zu diesem Reaktionsgemisch wurde dann langsam die Lösung von 225 mg (2 mmol) Kalium-tert.-butylat in trockenem DMSO getropft. Dann wurde drei Stunden auf 40 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde mit 100 ml 10%-iger Natriumchloridlösung und 150 g zerstoßenem Eis hydrolysiert und viermal mit Chloroform extrahiert. Die

gesammelten Chloroformextrakte wurden dann mehrmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung (Kieselgel/Chloroform) zeigte ein schnellaufendes Produkt mit einem R_F -Wert von 0,94. Nach präp. Schichtchromatographie (Laufmittel Chloroform) wurden 100 mg eines farblosen Öls isoliert.

Ausbeute: 100 mg, 26 % d.Th.

^1H -NMR-Spektrum: (270 MHz) in CDCl_3

$\delta =$	1,28	ppm	s	Methylenprotonen
=	2,04	ppm	m	Methylenprotonen, benachbart zur Doppelbindung
=	4,97	ppm	d, 11 Hz	endständige Vinylprotonen
=	5,00	ppm	d, 7 Hz	
=	5,80	ppm	m	Vinylprotonen

Massenspektrum: $\text{C}_{28}\text{H}_{50}$ MG: 386,98

M^+	=	386	3 %
$\text{M}^+ - 109$	=	277	100 %
$\text{M}^+ - 187$	=	199	68 %
$\text{M}^+ - 203$	=	183	10 %
$\text{M}^+ - 234$	=	152	17 %

7. Literaturverzeichnis

- 1) A. Strecker
Liebigs Ann. Chem. 67, 1 (1848)
- 2) L.F. Fieser, M. Fieser
Steroide, Verlag Chemie, Weinheim 1961
- 3) H. Wieland, H. Sorge
Z. physiol. Chem. 97, 1 (1916)
- 4) E.H. Huntress, R.F. Phillips
J. Am. Chem. Soc. 71, 458 (1949)
- 5) H. Rheinboldt
J. prakt. Chem. 2 153, 313 (1939)
- 6) L.F. Fieser, M.S. Newman
J. Am. Chem. Soc. 57, 1602 (1935)
- 7) H. Sobotka, A. Goldberg
Biochem. J. 26, 905 (1932)
- 8) S. Okamura
Z. physiol. Chem. 188, 11 (1930)
- 9) W. Marx, H. Sobotka
J. org. Chem. 1, 275 (1936)
- 10) K. Yamasaki
J. Biochem. Tokyo 22, 243 (1935)
- 11) L.F. Fieser, H. Seligman
J. Am. Chem. Soc. 58, 2482 (1936)
- 12) H. Rheinboldt, O. König, P. Otten
Liebigs Ann. Chem. 473, 249 (1929)
- 13) H. Rheinboldt
Z. physiol. Chem. 180, 180 (1929)
- 14) Ng. Bun-Hoi
Z. physiol. Chem. 278, 230 (1943)
- 15) H. Sobotka, J. Kahn
Biochem. J. 26, 898 (1932)
- 16) H. Rheinboldt, O. König, H. Flume
Z. physiol. Chem. 184, 219 (1929)
- 17) G. Cilento
J. med. pharm. Chem. 2, 241 (1960)

- 18) H. Rheinboldt, H. Pieper, P. Zervas
Liebigs Ann. Chem. 451, 256 (1927)
- 19) E. Chargaff, G. Abel
Biochem. J. 28, 1901 (1934)
- 20) T. Hatakeyama
Z. physiol. Chem. 187, 120 (1930)
- 21) H. Sobotka, J. Kahn
Chem. Ber. 65, 227 (1932)
- 22) Y. Go, O. Kratky
Z. Phys., B 26, 439 (1934)
- 23) O. Kratky, G. Giacomello
Monatsh. 69, 427 (1936)
- 24) G. Giacomello, O. Kratky
Z. Kristallogr., A 95, 459 (1936)
- 25) V. Caglioti, G. Giacomello
Gazz. Chim. Ital. 69, 245 (1939)
- 26) G. Giacomello
Gazz. Chim. Ital. 69, 790 (1939)
- 27) G. Giacomello, E. Bianchi
Gazz. Chim. Ital. 73, 3 (1943)
- 28) G. Giacomello, M. Romano
Gazz. Chim. Ital. 73, 285 (1943)
- 29) H. Sobotka, A. Goldberg
Biochem. J. 26, 555 (1932)
- 30) H. Rheinboldt, E. Flume, O. König
Z. physiol. Chem. 180, 180 (1929)
- 31) J. Mc Kenna, D. W. Thorntwaite
Chem. Comm., 809 (1977)
- 32) K. Schubert, G. Kaufmann, C. Hörhold
Biochim. Biophys. Acta 176, 163 (1969)
- 33) K. Schubert, G. Kaufmann, H. Budzikiewicz
Biochim. Biophys. Acta 176, 170 (1969)
- 34) Biochemistry of Membrane Transport, FEBS-Symposium
Nr.42, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg (1977)
- 35) H. Kuhl, H.-D. Taubert
Steroids 23, No.1, 89 (1976)

- 36) R.H. Levin, A.V. McIntosh, G.B. Spero, D.D. Rayman,
E.M. Meinzer
J. Am. Chem. Soc. 70, 511 (1980)
- 37) H.A. Staab, A. Mannschreck
Chem. Ber. 95, 1284 (1962)
- 38) D.M. Small, S.A. Penkett, D. Chapman
Biochim. Biophys. Acta 176, 178 (1969)
- 39) Z.V. Zaretski
Mass Spectrometry of Steroids, S. 119 ff. New York 1976
- 40) W.L. Walton, R.B. Hughes
J. Am. Chem. Soc. 79, 3985 (1957)
- 41) D.H. Williams, I. Fleming
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Aufl. (1971)
- 42) Organikum, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften
9. Aufl., Berlin 1969
- 43) R. Ryhage, E. Stenhagen
J. Lipid Res. 1, 361 (1960)
- 44) S. Bergström, R. Ryhage, E. Stenhagen
Svensk. Kem. Tidskr. 73, 566 (1961)
- 45) P.D. Dean, R.T. Aplin
Steroids 8, 565 (1966)
- 46) J.-H. Fuhrhop
Nachr. Chem. Tech. Lab. 28, 792 (1980)
- 47) H. Ti Tien
„Bilayer Lipid Membranes" (BLM), Marcel Dekker,
New York 1974
- 48) J.H. Fendler, E.J. Fendler
„Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems"
Academic Press, New York 1975
- 49) E.J.R. Sudhölter, J.B.F.N. Engberts, D. Hoekstra
J. Am. Chem. Soc. 102, 2467 (1980)
- 50) R. Brdicka, „Grundlagen der Physikalischen Chemie",
S. 860, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften,
Berlin 1973
- 51) J.H. Fendler
Acc. Chem. Res. 13, 7 (1980)

- 52) A.D. Bangham
Progr. Biophys. Mol. Biol. 18, 29 (1968)
- 53) E. Baumgartner
Dissertation FU Berlin 1980
- 54) C. Huang
Biochemistry 8, 344 (1969)
- 55) L. Reimer, „Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden“, S. 398 f, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 2. Aufl., 1967
- 56) F. Szoka, Jr., D. Papahadjopoulos
Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9, 467-508 (1980)
- 57) E. Sackmann, H. Träuble
J. Am. Chem. Soc. 94, 4482 (1972)
- 58) B.D. Ladbroke, R.M. Williams, D. Chapman
Biochim. Biophys. Acta 150, 333 (1968)
- 59) U. Schmidt, J. Gombos, E. Haslinger, H. Zak
Chem. Ber. 169, 2628 (1976)
- 60) A.C. Ott, M.F. Murray, R.L. Pederson
J. Am. Chem. Soc. 74, 1239 (1952)
- 61) W.G. Dauben, H.L. Bradlow
J. Am. Chem. Soc. 74, 559 (1952)
- 62) J.H. van Boom, J.D.M. Herschied
Synthesis 1973, 169
- 63) E.J. Corey, K.C. Nicolaou
J. Am. Chem. Soc. 96, 5614 (1974)
- 64) E.J. Corey, K.C. Nicolaou, L.S. Melvin jr.
J. Am. Chem. Soc. 97, 653 (1975)
- 65) U. Schmidt, G. Giesselmann
Chem. Ber. 93, 1590 (1960)
- 66) T. Endo, S. Ikenaga, T. Mukaiyama
Bull. Soc. Chem. Japan 43, 2632 (1970)
- 67) T. Mukaiyama, R. Matsueda, S.M. Suzuki
Tetrahedron Lett. 22, 1901 (1970)
- 68) H. Gerlach, A. Thalmann
Helv. Chim. Acta 57, 2661 (1974)

- 69) R. Schwyzer, Ch. Hürlimann
Helv. Chim. Acta 37, 155 (1954)
- 70) H.J. Callot
Angew. Chem. Suppl. (1982), 718
- 71) Houben-Weyl-Müller
Meth.d.org.Chemie, Thieme Verlag, Stuttgart
1972, Bd. V 1 b - V 1 d
- 72) F. Sondheimer, R. Mechoulam
J. Am. Chem. Soc. 79, 5029 (1957)
- 73) F. Sondheimer, R. Mechoulam
J. Am. Chem. Soc. 80, 3087 (1958)
- 74) W. Bergmann, J.P. Dusza
Liebigs Ann. Chem. 603, 36 (1957)
- 75) W. Bergmann, J.P. Dusza
J. org. Chem. 23, 459 (1958)
- 76) G. Drefahl, K. Ponsold, H. Schick
Chem. Ber. 98(2), 604 (1965)
- 77) A. Michaelis, H.v. Soden
Liebigs Ann. Chem. 229, 319 (1885)
- 78) G. Wittig, H. Eggers, P. Duffner
Liebigs Ann. Chem. 619, 10 (1958)
- 79) A. Mondon
Liebigs Ann. Chem. 603, 115 (1957)
- 80) F. Kröhnke
Chem. Ber. 83, 293 (1950)
- 81) K. Friedrich, H.-G. Henning
Chem. Ber. 92, 2756 (1959)
- 82) L.F. Fieser, S. Rajagopalan
J. Am. Chem. Soc. 73, 118 (1951)
- 83) G.I. Poos, G.E. Arth, R.E. Beyler, L.H. Sarrett
J. Am. Chem. Soc. 75, 422 (1953)
- 84) H.H. Sisler, J.D. Bush, O.E. Accountius
J. Am. Chem. Soc. 70, 3827 (1948)
- 85) F. Holloway, M. Cohen, F.H. Westheimer
J. Am. Chem. Soc. 73, 65 (1951)

- 86) J.C. Collins
Tetrahedron Lett. No. 30, 3363 (1968)
- 87) R.H. Shapiro, C. Djerassi
J. Am. Chem. Soc. 86, 2825 (1964)
- 88) R. Nuck
Dissertation, FU Berlin (1980)
- 89) G. Wittig, U. Schöllkopf
Chem. Ber. 87, 1319 (1954)
- 90) D.D. Coffmann, C.S. Marvel
J. Am. Chem. Soc. 51, 3496 (1929)
- 91) G. Wittig, W. Haag
Chem. Ber. 88, 1654 (1955)
- 92) O. Isler, H. Guttmann, H. Lindlar, E. Montavon,
R. Ruegg, G. Ryser u. P. Zeller
Helv. Chim. Acta 39, 463 (1956)
- 93) G. Wittig u. H. Pommer
DBP. 954 247 Kl 120, C. 1958, 1843
- 94) H. Pommer
Angew. Chem. 89, 437 (1977)
- 95) A.-B. Kerkhoff
Dissertation, FU Berlin (1982)
- 96) Biochemical Applications of Mass Spectrometry
John Wiley & Sons, New York 1972, S. 499

Lebenslauf

Name: Wolfgang Weimann
geboren am: 23. Dezember 1947 in Großilsede
Eltern: Weimann, Karl Heinz, Betriebsleiter, und
Weimann, Anneliese, geb.Schütt

1954 - 1958 Volksschule Großilsede
1958 - 1963 Ratsgymnasium Peine
1963 - 1966 Gymnasium Großilsede
September 1966 Reifeprüfung
Okt.1966 bis
Sept.1968 Wehrdienst bei der Bundeswehr
Okt. 1968 Immatrikulation zum Studium der Chemie
an der TU Braunschweig
April 1971 Dipl.-Chemiker-Vorprüfung
Sept. 1976 Dipl.-Chemiker-Hauptprüfung
Sept. 1975 bis
Sept. 1976 Diplomarbeit
unter der Leitung von Prof. Dr. H. Wolf
Okt. 1977 Beginn der vorliegenden Dissertation bei
Prof. Dr. J.-H. Fuhrhop in der Gesellschaft
für Biotechnologische Forschung in
Braunschweig-Stöckheim
ab Mai 1978 Weiterführung der Dissertation an der
FU Berlin unter Prof. Dr. J.-H. Fuhrhop;
Wiss. Teilzeitassistent im Chemie-Praktikum
für Medizinstudenten

